© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Wie Insekten-Männchen von Orchideenblüten getäuscht werden – Bestäubungstricks und Evolution in der mediterranen Ragwurzgattung *Ophrys*

H.F. Paulus

Abstract: The flowers of the Mediterranean orchid genus *Ophrys* imitate important specific sexual releasing factors of aculeate hymenopteran females. They attract female-seeking males in a species-specific way. The males attempt to copulate with the labellum. During the pseudocopulation the males remove the pollinia. If sexual mimikry is again successful, the next flower of the same *Ophrys* species can be pollinated.

- As the relationship is species-specific, the pollinators serve as pre-pollinating isolation factors. The flowers use the premating isolation factors of their pollinator species for their own genetic isolation from similar *Ophrys* species. Each *Ophrys* species has its own pollinator species.
- This is illustrated by numerous examples in many experimental choice tests in the field under natural conditions.
- Evolution of new species is always a consequence of a change in pollinator. The new pollinator-species selects those individual flowers for pollination which come nearest to its own female's releasing stimuli and consequently selects for the stimuli.
- If the systematic status of an *Ophrys* type is unclear, discovering its own pollinator is proof for its biospecies status.
- Identical pollinator species in different *Ophrys* species are possible only in those cases where the questionable plants are distributed allopatrically, or if syntopically distributed, if they are visited by bees with head- or abdominal pollinia. Examples for both types are given.
- When different *Ophrys* species have identical pollinator species, then the appearance of the flowers can become very similar. This convergence or parallelism occurs as a result of identical selection.

Key words: Pollination biology, *Ophrys*, pseudocopulation, female mimicry, signal evolution, olfactory communication, biospecies concept, self pollination avoidance strategies, pollinia hypothesis.

1. Einleitung

Die Arten der mediterranen Orchideengattung *Ophrys* sind schon lange als besonders fremdartig aussehend bekannt. Ihre Blüten zeigen eine gewisse Insektenähnlichkeit, die ihnen Bezeichnungen wie Bienen-, Hummel- oder Fliegenragwurz eingebracht haben, um nur die in Mitteleuropa bekanntesten Arten zu nennen. Welche biologische Bedeutung hinter diesen Blütenformen steckt, war lange Zeit gänzlich unbekannt. Selbst der versierte Kenner der Bestäubungsbiologie der Orchideen, der Evolutionsbiologe Charles Darwin (1877), widmet in seinem Buch: „On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilised by insects and ...“ kaum mehr als wenige Zeilen der Gattung *Ophrys*. Er zitiert einige eher merkwürdig klingende Beobachtungen eines Mr. Price, nach denen Bienen die Blüten „angegriffen“ hätten und sie wie einen „Teufel“ behandelt hätten, den man „bekämpfen“ müsse. Darwin schrieb zurück, dass er sich außerstande sehe, in diesem Verhalten irgendeinen Sinn zu sehen. Dass in den vermeintlichen Angriffen ein Stückchen Wahrheit steckt, konnte Darwin noch nicht ahnen. So ist sein damaliger Kommentar, dass „er sich darauf keinen Reim machen könne“. Tatsächlich hat erst der Franzose Pouyanne in Algerien als erster erkannt, welches Geheimnis hinter den Blüten der Gattung *Ophrys* steckt. Im Jahre 1916 erschien in der Zeitschrift der französischen Gesellschaft für Gartenkunde ein Artikel in französischer Sprache mit dem Titel: „Un curieux cas de mimétisme chez les Ophrydées (*Ophrys*)“. Er beobachtete, dass als einzige Besucher der Blüten der Spiegelragwurz *Ophrys speculum*[1] (= *vernixia*) die sehr bienenähnlichen Dolchwespen *Dasyscolia ciliata* (= *Campsoscolia*) (Hymenoptera, Scoliidae) auftraten. Da es sich bei den Besuchern ausschließlich um Männchen handelte, die auf der Blüte ganz offensichtlich Paarungsversuche ausführten und nicht etwa nach Nahrung suchten, schloss er daraus folgerichtig, dass diese Männchen die *Ophrys*-Blüte für ihr Weibchen halten. Auch wenn

[1] nomen conservandum!

Denisia **20**, zugleich Kataloge der oberösterreichischen Landesmuseen Neue Serie **66** (2007): 255-294

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

ihm dies natürlich zunächst niemand geglaubt hatte, so hatte Pouyanne ein neues Bestäubungsprinzip entdeckt, das ihm zu Ehren gelegentlich „Pouyanne'sche Mimikry" genannt wird (PASTEUR 1982), häufiger aber als „Pseudokopulation" bezeichnet wird (CORREVON & POUYANNE 1916, 1923, POUYANNE 1917; GODFERY 1925, 1929). KULLENBERG (1949, 1956, 1961) hat schließlich in umfangreichen Studien das Phänomen im Prinzip geklärt und bekannt gemacht. Alle *Ophrys*-Arten erlangen Bestäubungen über diesen Mechanismus der Sexualtäuschung, das Verhalten der Männchen ist als Pseudokopulation bekannt. Nur zwei Arten haben sich sozusagen etwas anderes einfallen lassen: *O. apifera* macht obligatorische Selbstbestäubung und *O. helenae* betreibt eine besonders ausgefallene Art der Bestäuberanlockung, nämlich Schlafplatzmimikry für Männchen der Langhornbienen-Gattung *Tetralonia* und *Eucera* (PAULUS & GACK 1993), bei der wahrscheinlich ähnlich wie bei der japanischen Orchidee *Cymbidium pumilum* für Dronen der asiatischen Honigbiene *Apis cerana japonica* (SASAKI et al. 1991) Aggregationspheromone den olfaktorischen Stimulus darstellen. Es ist interessant zu erwähnen, dass Sexualtäuschung auch bei 11 Orchideen-Gattungen in Australien (COLEMAN 1927, STOUTAMIRE 1975, BEARDSELL & BERNHARDT 1982, SCHIESTL et al. 2003), in Südamerika bei einigen Arten der Gattungen *Trigonidia* und *Mormolyca* (Maxillariinae), die von stachellosen Bienenmännchen (Meliponinae) bestäubt werden (van der PIJL & DODSON 1966, SINGER 2002, SINGER et al. 2004). Arten der Gattung *Lepanthes* (Pleurothallidinae) werden dagegen von Pilzmücken (Sciaridae) besucht (BLANCO & BARBOZA 2005). Auch in Südafrika wurden Orchideen mit Pseudokopualtion als Bestäubungsmethode gefunden (STEINER et al. 1994).

Pseudokopulation wurde nach der Entdeckung durch Poyanne und einigen weiteren Beobachtungen durch GODFERY (1922-1930) vor allem von KULLENBERG (1961) bearbeitet, der klar aufzeigen konnte, dass *Ophrys*-Blüten Bestäuberweibchen imitieren. Ein wichtiger Stimulus ist hierbei das Einsetzen eines Duftbouquets, das die Bestäubermännchen für das Sexualpheromon ihrer Weibchen halten.

Demnach stellte sich eine Reihe von weiteren Fragen:

Auf welchem Weg erreichen die Blüten diese Sexualtäuschung? Die plausible Annahme bestand darin, dass eine Blüte die wichtigen paarungsauslösenden Signale imitieren muss, damit die Bestäubermännchen die Blüte für ihr Weibchen halten und demnach mit Paarungsverhalten antwortet. Die hierfür notwendigen Signale sollten, wie bei einer Reihe Insekten bekannt, optische, olfaktorische und taktile sein. Für alle diese Signale muss eine entsprechende sensorische Ausstattung beim Empfänger (hier den zu täuschenden Männchen) ausgebildet sein. Worin die artspezifische Auslösung auf der Rezeptor- und der neuronalen Ebene besteht, ist in nur sehr wenigen Fällen bekannt. Darüber hinaus musste in Freilandtests aufgezeigt werden, dass die vermutete Artspezifität der Anlockung bei den vielen Arten der Gattung *Ophrys* tatsächlich besteht.

In langjährigen und aufwendigen Freilandstudien konnten PAULUS und Mitarbeiter in zahlreichen Wahltests zeigen, dass jede *Ophrys*-Art nur einen einzigen effektiven Bestäuber hat. Gelegentlich fanden sich auch weitere Blütenbesucher, die aber entweder nächst verwandte Arten waren (und offenbar ähnliche Duftbouquets haben) oder aus nicht bekannten Gründen von den Blütensignalen ebenfalls angelockt wurden. Die kleine Liste der zunächst bekannten Bestäuber bei KULLENBERG (1961) konnte beträchtlich vergrößert werden (PAULUS & GACK 1990a, 1994). Dabei konnten auch zahlreiche noch unbekannte neue Arten entdeckt und ihr eigenständiger Artstatus über den Biotest eines eigenen Bestäubers gezeigt werden (z. B. PAULUS 1998, 2001b). Daraus konnte ein Biospezieskonzept entwickelt werden, dass bei diesen Pflanzen bedeutet, dass jede Artbildung stets über das Erschließen eines neuen Bestäuber abgelaufen sein muss (PAULUS & GACK 1983, 1990a). Durch konsequente Anwendung dieses Konzeptes konnte erkannt werden, dass die Gattung statt der ursprünglich 30-40 inzwischen weit über 260 Arten enthält (DELFORGE 2005). Dasselbe Konzept konnte inzwischen auch bei australischen Sexualtäuschblumen angewendet werden (BOWER & BROWN 1997).

Ich werde im Folgenden unsere bisher vorliegenden Daten präsentieren,

- wie *Ophrys*-Blüten diese Sexualtäuschung erreichen,
- wie sich die einzelnen Arten darin unterscheiden und
- welchen Einfluss dies alles auf die Evolution und Artenbildung der Gattung gehabt hat.

Ein weiter interessanter Punkt ist, dass wir inzwischen auch einiges über die Methoden der Bestäubungsmaximierung im Zusammenhang mit sexueller Selektion wissen.

2. Das Prinzip der Bestäubung über Sexualtäuschung

Als reguläre Bestäuber der Gattung *Ophrys* sind bislang Männchen der aculeaten Hymenopteren (Stechimmen) und zwei Arten der Käfer-Gattung *Blitopertha* der Scarabaeidae (*Blitopertha lineolata* auf *Ophrys blitopertha* im Bereich der südöstlichen Ägäis und *B. majuscula* auf *O. urteae* in der Südtürkei, PAULUS & GACK 1990c und unpubl.) beobachtet worden. Als Ausnahme

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

treten aber auch sogenannte Nebenbestäuber auf, die offenbar von Teilen des Duftbouquets der *Ophrys*-Blüte mitangelockt werden (BORG-KARLSON 1989). Bei uns sind dies vor allem der Gartenlaubkäfer *Phyllopertha horticola* (Scarabaeidae) (viele eigene Beobachtungen) und die Schwebfliege *Microdon* (ENGEL 1985, eigene Beob.) bei der Hummelragwurz *Ophrys holoserica* (Mitteleuropa). Ihr normaler Bestäuber ist bei uns vor allem die Langhornbiene *Eucera longicornis* (siehe Abb. 15). Ansonsten sind aber in erster Linie Arten verschiedener Bienenfamilien (Apoidea) Pollinarienüberträger. Lediglich *Ophrys speculum* wird von der Dolchwespe *Dasyscolia* (= *Campsoscolia* auct.) *ciliata* (Scoliidae) (POUYANNE 1917, KULLENBERG 1949, 1961; GÖLZ & REINHARD 1977, PAULUS 1978) und *O. insectifera* von der Grabwespe *Argogorytes mystaceus* (siehe Abb. 11), seltener auch *A. fargei* (Sphecidae) (WOLF 1950, KULLENBERG 1956) besucht. Wahrscheinlich wird auch *O. cilicica* in SO-Anatolien ebenfalls von *Argogorytes* bestäubt (PAULUS & GACK 1990a). Unter den Bienen sind es vor allem die Andrenidae mit vielen Arten der Gattung *Andrena* (*O. fusci-lutea* aggr., *O. sphegodes* aggr.), drei Arten der Seidenbienen (*Colletes*, Colletidae) (*Ophrys arachnitiformis-exaltata*-Gruppe, *O. algarvensis* aus Südspanien, *Ophrys gortynia* in Kreta und *Ophrys murbeckii* (= *aspea*) aus Nord-Tunesien[2]), Pelzbienen der Gattung *Anthophora*, Kuckucksbienen der Gattungen *Melecta* und *Eupavlovskia*, Langhornbienen der Gattungen *Eucera* (s.lat.) und *Tetraloniella*[3] (*O. holoserica* s.lat. aggr.), die Holzbienen *Xylocopa iris* (*O. sipontensis*, *O. spruneri*) und *X. violacea* (*O. grigoriana*) (PAULUS 2006) sowie die Schmarotzerhummel *Psithyrus vestalis* (*O. chestermanii* und *O. normanii*, Sardinien, PAULUS & GACK 1995). Aktuelle Zusammenfassungen der Bestäuberbefunde findet sich bei PAULUS & GACK (1986, 1990a, b, c, d, 1995) oder PAULUS (2005, 2006).

Der Blütenbesuch selbst läuft fast immer nach einem bestimmten Schema ab. Gerät ein auf Weibchensuche befindliches Bestäubermännchen in die Duftfahne einer auf ihn passenden *Ophrys*-Blüte (nach meinen Freilandbeobachtungen ab ca 5-10 m), so beginnt ein Suchflug in Richtung Duftquelle. Dieser ist meist mehr oder weniger zickzackförmig, um dann ab etwa 1-2 m vor der Blüte immer enger zu werden. Schließlich sieht das Männchen das vermeintliche Weibchen und stürzt sich blitzschnell auf die Blüte, landet, sucht nach der richtigen Sitzposition und beginnt mit heftigen Kopulationsbewegungen. Dazu wurde der Begattungsapparat meist schon vor der Landung weit ausgestülpt. Das getäuschte Männchen versucht immer und immer wieder mit stechenden Hinterleibsbewegungen verbunden mit lautem Thorax-Summen, die Geschlechtsöffnung des Pseudoweibchens zu finden. Dann sitzt das Tier oft ganz ruhig, um mit heftigem Flügelschwirren eine erneute Stimulation zu versuchen. Bei diesen heftigen Bewegungen kommt das Männchen sehr schnell mit den Klebscheiben der Pollinarien in Berührung, die dann aus den Fächern herausgezogen werden. Meist fliegt das Tier nach 10-30 sec ab, um dann aber sehr oft auf einer weiteren Blüte zu landen. Dann wiederholt sich das Spiel wieder, wird aber in der Regel schneller abgebrochen.

Welche Bedeutung die einzelnen Verhaltenskomponenten haben, ist auch im normalen Paarungsverhalten der Bestäuberbienen wenig untersucht. Das zickzackförmige Anfliegen mit enger werdenden Amplituden entspricht der Auffassung, dass nicht einem Konzentrationsgefälle, sondern dass die Männchen versuchen, in einer Art Dufttunnel zu bleiben, um so die Duftquelle zu finden. BALKOVSKY & SHRAIMAN (2002) haben kürzlich von einer chemo-physikalischen Seite gezeigt, dass solche Duftfahnen aus Molekülwolken bestehen, die in unterschiedlicher Dichte und Packung mehr zufällig verteilt in eine Hauptrichtung driften. Dadurch kann auch kein Insekt einem Duftkonzentrationsgradienten folgen, wie oft angegeben, sondern kann lediglich versuchen, in dieser Duftfahne zu verbleiben. Das machen die Männchen so, dass sie mehr oder weniger im Zickzackflug dem Duftkanal folgen. Immer wenn sie ihn verlassen, fliegen sie wieder solange suchend umher bis sie diese erneut gefunden haben. Das heftige Flügelschwirren und periodische Thoraxbrummen kommt bei allen bestäubenden Bienenarten vor. Soweit bekannt, treten dieselben Verhaltenskomponenten weit verbreitet auch bei den richtigen Paarungen auf (ALCOCK et al. 1978, EICKWORT & GINSBERG 1980). Bei *Osmia rufa*, die in Sardinien als Bestäuber von *Ophrys panattensis* auftritt (PAULUS & GACK 1995), ist dies sehr auffällig (RAW 1976, MADDOCKS & PAULUS 1987). Hier wird vermutet, dass Weibchen aus den Vibrationssignalen auf die Körpergröße des Männchens schließen können und diese im Zusammenhang der sexuellen Selektion als Fitness-Indikator ansehen (LARSEN et al. 1986, SEIDELMANN 1999). Beweiskräftige Untersuchungen liegen dazu allerdings nicht vor. Sehr oft kann man sehen, dass die Männchen während der Pseudokopulationen immer und immer wieder mit heftigem Flügelschwirren verbunden mit Kopulationsbewegungen das vermeintliche Weibchen zu Reaktionen veranlassen wollen oder eben einfach nur zeigen wollen, wie kräftig sie sind.

Da nach einer Landung auf der *Ophrys*-Lippe oft die Pollinarien sofort entnommen worden sind, haben die Blüten einen einfachen Trick erfunden, um während

[2] *Colletes formosanus* konnte ich erstmals Ende März 1998, ausgiebiger dann Ende Februar 1999 bei der Pseudokopuation mit *O. murbeckii* (sensu *O. aspea*) studieren.

[3] Im südwestlichen Mitteleuropa wird die spät blühende (August) *Ophrys elatior* von *Tetraloniella salicariae* bestäubt.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Tab. 1: Bestäubergruppen in der Gattung *Ophrys.*

Bestäuber	*Ophrys*-Arten-Gruppe	Zahl *Ophrys*-Arten	Verbreitung
Scoliidae	*speculum*	1	Mittelmeerraum
Sphecidae	*insectifera*	1	Zentral-Europa
Argidae	*subinsectifera*	1	NO-Spanien
Apoidea, Colletidae			
Colletes	*exaltata-arachniti formis-cephalonica*	2-7	Zentr. Mittelmeergebiet: NO-Spanien bis N-Dalmatien und NW-Griechenland, Ionische Inseln
Colletes	*murbeckii (=aspea)	1	*Tunesien, O-Algerien*
Colletes	**algarvensis*	1	S-Spanien, S-Portugal
Colletes	*gortynia*	1	Kreta
Apoidea, Andrenidae			
Andrena	*sphegodes*-Gruppe	ca. 65	Europa, Mittelmeergebiet bis Turkmenistan
Andrena	**fusca-lutea*-aggr.	ca. 65	Mittelmeergebiet
Andrena	aymoninii	1	*S-Frankreich*
Apoidea, Anthophoridae			
Anthophora	**omegaifera-dyris*-Gruppe	4-6	Disjunkt westl./öst. Mittelmeergebiet
Anthophora	*argolica-crabronifera- Gruppe*	9	zentrales/östl. Mittelmeergebiet
Melectini	*cretica-reinholdii*	6	Griechenland, Türkei, N-Iran
Xylocopa	*spruneri, grigoriana sipontensis*	2 1	Griechenland, Kreta S-Italien
Euceral Tetraloniella	*holoserica-scolopax-oestrifera-* Gruppe	ca. 70	Mittelmeergebiet, Zentral-Europa
Apoidea, Megachilidae			
Osmia	*lunulata-promontori-tarentina*-Gruppe	3	Italien, Sardinien, Sizilien
Chalicodoma	*bertolonii- bertoloniiformis- melitensis-*Gruppe	7-11	S-Frankreich, N-Spanien, Italien, Balearen, Kroatien, Malta
Chalicodoma	*ferrum-equinum*	1-2	Griechenland, Türkei
Chalicodoma	*gottfriediana*	1	Kephallonia
Chalicodoma	**atlantica*	1	S-Spanien, N-Afrika
Coleoptera, Scarabaeidae			
Blitopertha	**blitopertha-urteae*	2	SO-Griechenland, Türkei

*Abdomenpollination

weiterer Kopulationsversuche auf derselben Blüte Selbstbestäubungen zu vermeiden. Die entnommenen Pollinien stehen zunächst noch ca. 1-2 Minute senkrecht in die Höhe, bevor sie sich nach einem Trocknungsprozess der Stielchen nach vorne senken. Erst dann sind sie für eine Pollination einsatzbereit. In dieser Zeit kann sich also ein Männchen ohne Gefahr der Selbstbestäubung auf derselben Blüte oder Pflanze zu schaffen machen oder zu ihr zurückkehren. Schon DARWIN (1862) hat die Pollinienabsenkung bei verschiedenen Orchideen genau untersucht und erkannt, dass die Zeit, die bis zur völligen Absenkung benötigt wird, genau der durchschnittlichen Zeit entspricht, die z. B. eine Hummel bis zum Besuch eines nächsten Blütenstandes von *Orchis mascula* braucht.

Diese Pollinien kleben im Übrigen so fest am Kopf oder Hinterleib, dass sie diese trotz heftiger Putzbewegungen nicht mehr entfernen können. Solche Männchen sind dann viele Tage oder auch einige Wochen regelrecht markiert. Vor dem letzten Abflug streifen viele Männchen mit ihrem Vorderbein-Putzkamm über die Fühler. Danach können besonders die Lanhghornbienen noch sekundenlang im Schwirrflug vor der Blüte stehen. Regelrecht „ungläubig" scheinen sie sich die Blüte noch einmal genau anzuschauen und zu riechen, um sich diese einzuprägen. Sie kehren dann fast nie wieder zu derselben Blüte zurück, da sie diese offenbar individuell wiedererkennen können, sondern besuchen anschließend neue Blüten. Tatsächlich konnten wir zeigen, dass die getäuschten Bestäubermännchen nach kurzer Zeit sogar den Blütenschwindel durchschauen und auf die Attrappe nicht mehr hereinfallen (PAULUS et al. 1983, PAULUS & GACK 1984, PAULUS 1988a). Zunächst vermeiden sie individuell diejenigen Pflanzen, die sie schon einmal besucht haben, um später überhaupt keine *Ophrys*-Blüten mehr zu besuchen. Neue Anflüge erhalten *Ophrys*-Blüten daher meist nur von noch Blüten unerfahrenen anderen Männchen. Dies erklärt auch, warum man das Phänomen der Pseudokopulation bisher so selten beobachtet hat. Die Wahrscheinlichkeit, bei der Pseudokopulation gerade dabei zu sein, ist sehr gering, da sie in der Blühzeit einer Pflanze mit viel Glück gerade ein einziges Mal passiert. Ein bestimmtes Pflanzenindividuum blüht ca 3-4 Wochen lang. Die Bestäubungsrate in einer *Ophrys*-Population ist kaum je höher als 5-10 %! Dennoch reicht diese Rate bei weitem aus, um den Fortbestand der Population zu sichern. Wenn Bestäubungen auch selten sind, so sind sie doch sehr effektiv. Jede bestäubte Blüte kann über 30000 Samen liefern (NAZAROV & GERLACH 1997)! Die zentraleuropäischen Arten *Ophrys holoserica* und *O. sphegodes* haben ca. 12000-14000 Samen/Blüte (Paulus, unpubl.).

Doch mit welchen Tricks ist eine *Ophrys*-Blüte in der Lage, die Bestäubermännchen zu täuschen und sogar nur solcher ganz bestimmter Arten?

2.1. Methoden der Signalfälschung

Die Arten der Orchideengattung *Ophrys* müssen, um angeflogen und bestäubt zu werden, mit ihren Blüten die wichtigen paarungsauslösenden Signale imitieren (KULLENBERG 1961, KULLENBERG 1973 a, b, PAULUS & GACK 1980, 1990b, PAULUS 1988, 2006). Diese Signale sind primär von den Bestäuberinsekten in ihrer eigenen sexuellen Evolution entwickelt worden. Sie dienen ihnen als gut funktionierende Mechanismen zur spezifischen Arterkennung und damit zur Verhinderung von Hybridisierungen. Darüber hinaus dürften sie eine wichtige Rolle im Rahmen der sexuellen Selektion spie-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Abb. 1: Beispiele von artspezifischen Bestäubern in der Gattung *Ophrys*.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

len. Drei Grundtypen von Signalen oder Reizen spielen hierbei eine wichtige Rolle:

- Duft- oder olfaktorische,
- optische und
- taktile Reize,

die jeweils als mehr oder wenige komplexe Muster den Charakter von Schlüsselreizen haben und daher in angeborener Weise von einem sogenannten AAM (angeborener Auslösemechanismus) im Gehirn der Männchen erkannt werden.

Aus der Fortpflanzungsbiologie vieler Insekten weiß man, dass zur Anlockung des Geschlechtspartners chemische Lockstoffe (Sexualpheromone) eingesetzt werden, die von den Männchen in artspezifischer Weise mit Hilfe ihrer Geruchsrezeptoren auf den Fühlern erkannt und mit Suchflügen nach ihren Weibchen beantwortet werden. Die Männchen besitzen einen in ihrer Evolution erworbenen artspezifischen AAM, der ihnen ermöglicht, unter tausenden von Duftstoffreizen genau diejenige Duftstoffmischung zu erkennen, die von ihren Weibchen als Arterkennungsabzeichen eingesetzt wird.

In der Nähe der Weibchen angekommen, können dann vom Männchen optische Signale ihrer Weibchen wahrgenommen und wiederum in artspezifischer Weise erkannt werden. Auf dem Weibchen niedergelassen, treten eine dritte Sorte von Reizen in Aktion, nämlich taktile, mit deren Hilfe die Männchen Information darüber erhalten, wo bei dem Weibchenkörper hinten und vorne ist. Dazu wird sehr schnell der „Strich" der Körperbehaarung registriert (KULLENBERG 1961, PIRSTINGER 1996). Sie müssen auch hierbei sehr schnell sein, weil auch andere Männchen identische Absichten verfolgen und es dann letztlich darauf ankommt, wer der Schnellste ist (scramble competition, sexuelle Selektion). Der Schnellste ist der, der ein Weibchen schneller findet, erkennt und schließlich dank der richtigen Orientierung auf dem Weibchen selbst die Kopulation erlangt. Nicht untersucht ist, wieweit auch die taktilen Reize eine gewisse Spezifität enthalten. Bislange vorliegende vergleichende SEM-Untersuchungen der Lippenbehaarungen und vor allem Experimente haben noch keine ausreichenden Hinweise bringen können (PIRSTINGER 1996). Es ist zu vermuten, dass sie nur im Zusammenhang mit kontakt-chemischen Reizen erfolgen wird.

Wir werden sehen, dass *Ophrys*-Blüten alle diese Signale imitieren, um erfolgreich spezifische Bestäubermännchen anzulocken, sie zu täuschen und für ihre Pollinienübertragung zu benutzen.

2.1.1. Duftsignale

Eine *Ophrys*-Blüte produziert über das Labellum verteilt in vielen Drüsenzellen hunderte verschiedener Duftkomponenten, deren jeweilige Mischungsverhältnisse und Konzentrationen ein für die *Ophrys*-Arten spezifisches Duftbouquet („Parfüm") ergibt. Die Stoffe selbst sind vor allem Terpenoide, langkettige aliphatische Kohlenwasserstoffe, Aldehyde, Ketone und 1-, 2-Alkohole sowie cyclische (aromatische) Verbindungen, also Stoffe, die auch sonst im Tier- und Pflanzenreich häufig als Duftstoffe eingesetzt werden. Erst ab 1978 hatten Bergström, Hefetz, Borg-Karlson u. a. mit Duftstoffanalysen bei Blüten und Bienen, um die olfaktorische chemische Anlockung zu dokumentieren. Zusammenfassungen für Insekten im Allgemeinen finden sich bei FRANCKE & SCHULZ (1999), für Bienen bei DUFFIELD et al. (1984), FREE (1987), ENGEL et al. (1997), eine neue in AYASSE et al. (2001). Doch mit den erstaunlich langen Listen von vorkommenden Duftmolekülen aus den *Ophrys*-Blüten konnte man lange Zeit nichts anfangen, zumal sie zumindest im qualitativen Bereich einzeln getestet, nicht mit den Duftstoffen der parallel analysierten Bestäuber übereinstimmten (BORG-KARLSON 1987, 1990). Verhaltenstests mit verschiedenen künstlich dargebotenen Duftkomponenten erbrachten lediglich, dass bestimmte Komponenten zwar in der Lage sind, Reaktionen bei den Männchen auszulösen, darin aber keinerlei Artspezifität gefunden werden konnte (KULLENBERG & BERGSTRÖM 1976, PRIESNER 1973). BORG-KARLSON (1990) schloss sogar daraus, dass *Ophrys*-Blüten lediglich Gruppen von nur beiläufig wirksamen Duftkomponenten produzieren, auf die nur ein kleiner Teil der Bestäubermännchen hereinfallen. Dies tun sie auch nur deshalb, weil sie, solange ihre richtigen Weibchen noch nicht geschlüpft sind, eine sehr niedrige Schwelle haben, auf alles zu reagieren, was irgendwie Weibchen ähnlich ist. Daraus resultierte lange die Annahme einer Duftstoffmimikry, in der aber die Blüten chemisch anders operieren als die Bienen.

Die langen Listen der gefundenen Duftstoffe aus *Ophrys*-Blüten (BERGSTRÖM 1978, BORG-KARLSON 1987, 1990; BORG-KARLSON et al. 1985, 1987) haben immerhin gezeigt, dass bei Beachtung der korrekten Systematik alle Arten tatsächlich ein jeweils hochspezifisches Duftstoffgemisch besitzen. Bemerkenswert daran ist, dass diese Mischungen höchstens in einzelnen Komponenten mit den entsprechenden Duftstoffmischungen der Bestäuberweibchen übereinstimmen. Dazu muss allerdings angemerkt werden, dass in diesen Untersuchungen merkwürdiger Weise nie adäquate Objekte, nämlich noch unbegattete (virginelle) Bestäuberweibchen in vergleichbarer Weise untersucht worden sind, wir also über die für die Männchen reizwirksamen Komponenten bis vor kurzem nicht unterrichtet waren (BERGSTRÖM & TENGÖ 1978, BERGSTRÖM et al.1982, FRANCKE et al.1981, 1984, TENGÖ & BERGSTRÖM 1976, 1977, BORG-KARLSON 1990 u.v.a.). Aus den langen Listen von gefundenen Duftmolekülen konnte nicht auf

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

die für die Männchen artspezifisch anlockenden Komponenten geschlossen werden.

Eine erste Untersuchung der Reaktionen über Elektroantennogramm-Techniken wurde von PRIESNER (1973) vorgenommen. Er konnte zeigen, dass *Andrena*-Männchen tatsächlich auf diese Duftgemische antworten. Doch war bei seinen Objekten keine einzige als Bestäuber auftretende Art dabei, so dass aus diesen Resultaten keine weiteren Schlüsse gezogen werden konnten. Bislang ging man daher davon aus, dass die *Ophrys*-Arten daher Duftmimikry betreiben, indem sie mit chemisch anderen Stoffgemischen dieselbe physiologischen und verhaltensbiologischen Reaktionen bei den Männchen auslösen, wie dies ihre arteigenen Weibchen tun (KULLENBERG 1973a) und dabei nur bedingt spezifisch reagieren. Wie aus den zahlreichen Freilandbeobachtungen später ersichtlich war, sprechen die Männchen auf diese gefälschten bzw. signalkopierten Düfte mit ihren angeborenen Auslösermechanismen (AAM's) so spezifisch an, als wären es die echten Auslösersignale ihrer Weibchen. Im Übrigen konnten wir in zahlreichen Freilandtests auch zeigen, dass die alte These nicht zutrifft, nach der die *Ophrys*-Blüten nur reizwirksam wären, wenn die Bestäuberweibchen noch nicht aktiv sind. Nach meinen Erfahrungen sind die *Ophrys*-Blüten für Männchen immer reizwirksam, auch lange nachdem die Weibchen schon geschlüpft sind (PAULUS 1988, PAULUS & GACK 1990 a-d).

Das Duftbouquet ist eine perfekte Signalkopie

Da nach bisherigen Duftstoffuntersuchungen gänzlich unklar war, welche der Substanzen die reizwirksamen sind, mussten wir ein neues Verfahren einsetzen, um aus dem Gesamtbouquet von weit über 100 Molekülen diejenigen herauszufinden, die für die Männchen das Signalbouquet für ihr noch unbegattetes Weibchen darstellt. Dazu musste allerdings vorher das Sexuallockstoffbouquet des Bestäuberweibchen geklärt werden, da sonst nicht klar ist, wonach gesucht werden soll (SCHIESTL et al. 1999a). Erschwerend kam hinzu, dass bis vor kurzem von keiner einzigen Wildbiene ein Sexualpheromon bekannt war. Die Extraktion der Weibchen erbrachte nämlich ebenfalls nur eine ungewöhnliche große Ansammlung von vor allem langkettigen Kohlenwasserstoffen, von denen ihrerseits nicht bekannt war, welche Moleküle davon in welcher Mischung als Sexuallockstoff fungieren.

Die Methode, dies herauszufinden bestand darin, die gaschromatografische Analysetechnik (im Verband einer Massenspektrometrie, um die Moleküle zu identifizieren) für die vielen Duftmoleküle mit einer Elektroantennogramm-Technik (gas chromatography-electroantennography = GC-EAD) zu koppeln. Das funktioniert im Prinzip so, indem die Duftbouquets der *Ophrys*-Blüten zur Analyse in die Gaschromatographie-Säule eingespritzt werden. Dort werden sie in der Reihenfolge ihrer Molekülgrößen verdampft und als chromatographisches Pik-Muster sichtbar gemacht. Jeder Pik entspricht einem einzelnen Molekül in diesem Gemisch. Als erstes verdampfen natürlich die leicht flüchtigen, später die schwerer flüchtigen Moleküle. Die Kopplung mit einer Elektroantennogramm-Analyse besteht darin, dass man nun im Verband der chemischen Analyse gleichzeitig jedes dieser Moleküle einzeln über die Nase der Bienenmännchen bläst und diese „befragt", ob sie den Stoff riechen oder nicht. Diese Befragung erfolgt so, dass man zwei Elektroden an die Basis und an die Spitze der Antenne einsticht, die einen Strom dann messen, wenn eine oder viele der zahlreichen Geruchsrezeptoren auf dieser Antenne antworten. Sie antworten dann, wenn sie mit ihren Sinneszellen das Molekül wahrnehmen. Diese Antworten können als Elektrodenstrom sichtbar gemacht werden. Genau mit diesen Methoden identifizierten wir die spezifischen Duftstoffgemische der Spinnenragwurz (*Ophrys sphegodes*) und den Weibchen seiner Bestäuberbiene *Andrena nigroaenea* (SCHIESTL et al. 1999a, b, 2000). Das gleiche taten wir auch mit *Ophrys speculum* (= *vernixia*) und ihrer Bestäuberdolchwespe *Dasyscolia* (= *Campsoscolia*) *ciliata* (AYASSE et al. 2003). Natürlich wurden hier zum ersten Mal virginelle Weibchen untersucht. Zunächst wurden alle von der Lippe emittierten Duftmoleküle charakterisiert und diese mit Cuticula-Abwaschen noch unbegatteter *Andrena nigroaenea*- und *Dasyscolia ciliata*-Weibchen verglichen. Jeweils beide Duftstoffgemische wurden über die Gaschromatographie in ihre Komponenten zerlegt und jeder Molekültyp einzeln über die Antenne von Männchen geblasen. An ihnen wurden auf elektrophysiologischem Weg über Summenpotentiale Reaktionen gemessen. Dabei stellte sich heraus, dass Rezeptoren auf den Antennen der *Andrena nigroaenea*-Männchen in beiden Duftbouquets genau auf dieselben Gruppen von etwa 16-18 Molekülen reagierten. In anschließenden Verhaltenstest (Biotests) wurden wiederum genau diese 16 Moleküle als Bouquet frei fliegenden Männchen geboten. Auch sie reagierten nur auf diese Mischung mit spezifischen Kopulationsreaktionen (SCHIESTL et al. 1999b, 2000). Damit war zum ersten Mal gezeigt worden, mit welchen Komponenten gelockt wird und dass diese bei der Blüte und dem unbegatteten Bestäuberweibchen völlig identisch sind. Die bisher angenommene Mimikry in Form von Duft-Äquivalenz bzw. die These, dass *Ophrys*-Blüten lediglich sekundär wirksame Stoffe emittieren (BORG-KARLSON 1990), stimmt also nicht. Das artspezifisch reizwirksame Duftbouquet wird sogar ziemlich genau imitiert. Offenbar operieren viele der nah verwandten *Ophrys*-Arten in der Weise, dass sie mit einem Komponenten reichen Set an langkettigen Kohlenwasserstoffmolekülen einen jeweils artspezifisches

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

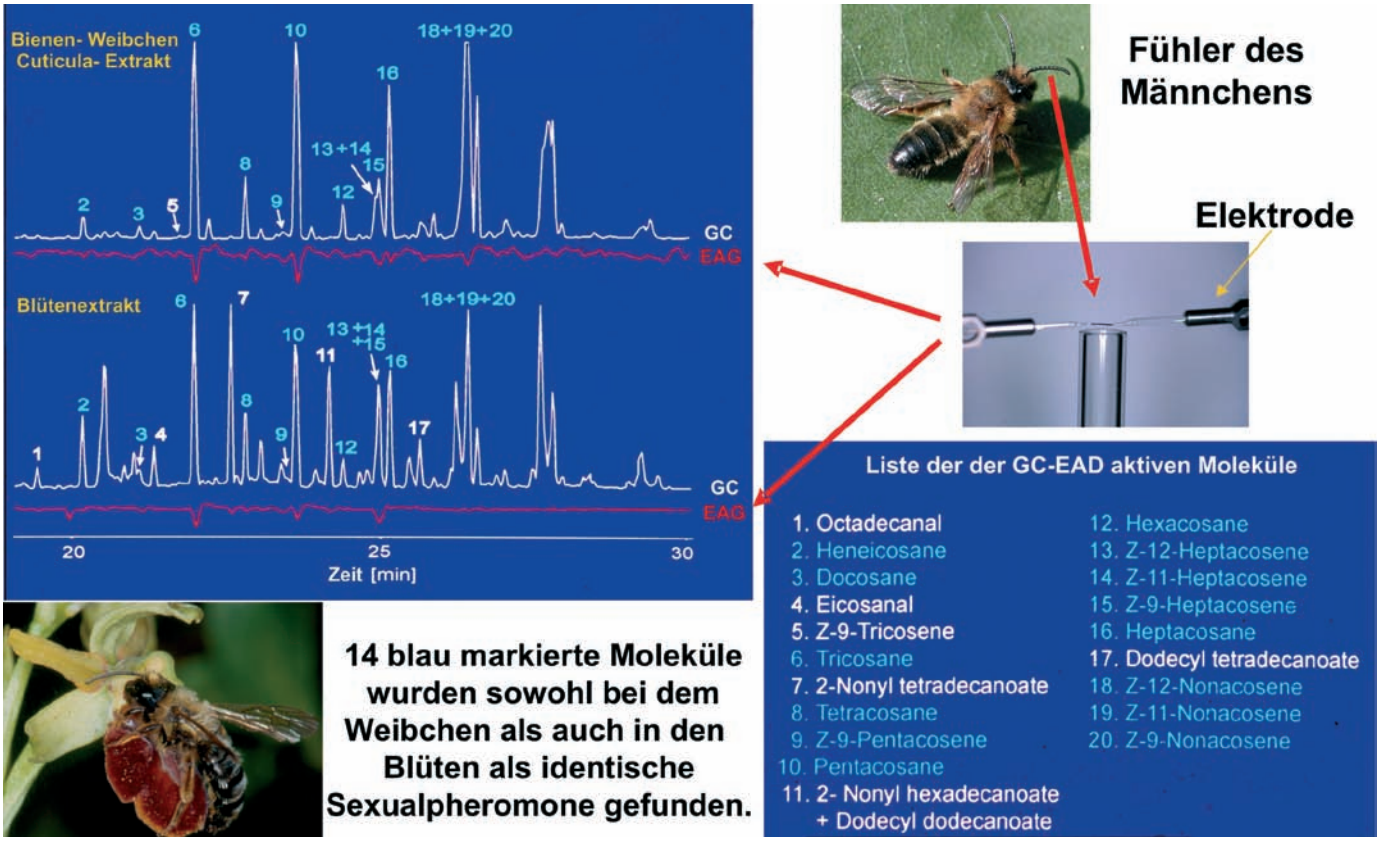

Abb. 2: Gas-Chromatogramme (GC: weiße Linien) der Duftbouquets und simultane Elektroantennogramme (EAG = EAD: rote Linien) von bei *Andrena nigroaenea* und *Ophrys sphegodes.* Jeder Pik im Chromatogramm stellt ein Duftmolekül dar. Jeder Ausschlag im EAD stellt eine Reaktion auf der männlichen Antenne dar. Das bedeutet, dass dieses Molekül von dem Männchen wahrgenommen wurde. Die Männchen reagierten auf diesselben 14 blau markierten Moleküle, nämlich die aus den Weibchenextrakten als auch auf die der *Ophrys*-Blüten (verändert und ergänzt nach SCHIESTL et al. 1999b, 2000).

Bouquet erzeugen (Abb. 2). Dasselbe Prinzip, jedoch mit lediglich 2-4 Komponenten, ist bei einer Reihe von Nachtfaltern bekannt (ROELOFFS 1995). Wie bei diesen Nachtfaltern werden bei nah verwandten *Ophrys*-Arten, insbesondere solchen, die zusammen wachsen, verschiedene Mischungen lediglich dadurch erzeugt, dass mit den relativen Anteilen derselben Komponenten „gespielt" wird (SCHIESTL & AYASSE 2002). Im Unterschied zu den Nachtfaltern sind die *Ophrys*-Bienenweibchen-Duftmischungen wesentlich komplexer.

Weitere vergleichbare Untersuchungen laufen zur Zeit in solchen Orchideen-Arten-Gruppen (*Ophrys fusca* s.lat. und *O. sphegodes* s.lat.), bei denen allopatrisch verbreitete, aufgrund deutlich divergierender Blütenmorphologie als Arten interpretierte Formen vorkommen, die alle von derselben Bienenart bestäubt werden. Die Hypothese ist, dass alle diese Morphospezies-Typen in der Evolution unabhängig denselben Bestäuber erschlossen haben (PAULUS 1998, 2001b) und dann natürlich alle mit denselben Duftbouquets operieren müssten. Es handelt sich um Arten, die von *Andrena flavipes* einerseits und *A. nigroaenea* andererseits bestäubt werden. Letztere Bienenart bestäubt *Ophrys fusca* s.str. (Mallorca), *O. sitiaca* (Kreta) per Abdomenpollination sowie *Ophrys sphegodes* (SW-Deutschland, Ost-Österreich, Süditalien) und *O. grammica* (= cf. *herae* auct.) (aus Kreta) per Kopfpollination. *Andrena flavipes* pseudokopuliert dagegen mit den jeweils allopatrisch verbreiteten *Ophrys bilunulata* (Südwesteuropa), *O. funerea* (= *zonata*) (Sardinien), *O. obaesa* (Sizilien), *O. caesiella* (Malta, S-Sizilien), *O. leucadica* (S-Griechenland, Ionische Inseln, Inseln der Ägäis außer Kreta), *O. africana* (N-Tunesien) und *O. israelitica* (Israel) (PAULUS & GACK 1990a, b, c; PAULUS 2001a). Bislang vorliegende Resultate zeigen, dass alle diese Arten tatsächlich mit denselben Duftbouquets anlocken (STÖKL et al. 2005).

Sie bestätigen, dass auch bei anderen *Ophrys*-Arten und ihren Bienen offenbar nicht nur mit einzelnen wenigen Duftmolekülen gearbeitet wird, sondern ein artspezifisches Duftmuster durch die Mischung bestimmter Stoffklassen wie etwa Alkene und Alkane erzeugt wird. Spezifisch scheint hier neben den Molekültypen selbst, das Mischungs- und Mengenverhältnis von Alkanen zu Alkenen zu sein.

Ein gänzlich anderer Fall findet sich bei dem Artenpaar *Dasyscolia ciliata* (Scoliidae) und *Ophrys speculum*

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

(= *vernixia*). Nach den bisher vorliegenden Daten wird hier nur mit wenigen Molekültypen, nämlich (α-1)-Hydroxy und (β-1)-oxo Säuren, insbesondere 9-Hydroxydecanoid Säure operiert. Es handelt sich um eine Molekülgruppe, mit der auch die Honigbienenkönigin ihre Männchen anlockt (AYASSE et al. 2003).

Daraus ergibt sich die interessante Frage, welche kanalisierenden Zwänge *Ophrys*-Arten veranlassen, einmal mit sehr komplexen Mischungen und in anderen Fällen nur mit einem oder wenigen komplexen Molekülen Bestäubermännchen anzulocken. Eine Antwort könnte in dem Zusammenhang liegen, dass artenreiche *Ophrys*-Artengruppen stets von Bienengattungen bestäubt werden, die ihrerseits sehr artenreich sind. Solche *Ophrys*-Arten sollten dann mit komplexen Mischungen locken, da auch die Bienenarten sich offenbar über komplexe Duftmuster voneinander genetisch isolieren. Dies würde auf von *Andrena*-, *Anthophora*- und *Eucera*-Arten bestäubte *Ophrys*-Gruppen zutreffen. Wie die Tabelle zeigt, besteht hier eine deutliche Korrelation. Dagegen gibt es in Europa keine weitere Art der Gattung *Dasyscolia*. Ähnliches gilt für *Argogorytes* (Specidae), die Bestäuber von *Ophrys insectifera* ist. Hier sind zwar viele Blütenduftkomponenten bekannt (BORG-KARLSON et al. 1987), nicht jedoch das spezifische Lockstoffbouquet. Die Erwartung ist, dass auch hier der Lockstoff aus nur wenigen komplexen Molekülen besteht. Tatsächlich fanden in dieser Artengruppe nur wenige weitere Artabspaltungen statt, die jweils von komplett verschiedenen Bestäubergruppen verursacht worden sind. *Ophrys insectifera* wird von einer Grabwespe (Sphecidae), *O. aymoninii* von einer Biene (*Andrena combinata*) und *O. subinsectifera* von einer Bürstenhorn-Blattwespe (Argidae) bestäubt, die also im System der Hautflügler ziemlich weit auseinander stehen.

Eine weitere interessante Frage ist, ob für Männchen virginelle Weibchen dieselbe Reizwirksamkeit haben wie die entsprechenden *Ophrys*-Blüten. Dazu liegt bislang für *O. speculum* nur ein Experiment (von mir Ende Februar 1999 in Tunesien durchgeführt) vor, das zeigt, dass tatsächlich kein wesentlicher Unterschied in der Attraktion besteht. Hierzu war es notwendig, ein sicher noch unbegattetes Weibchen von *Dasyscolia ciliata* im Wahltest mit einer Blüte von *Ophrys speculum* fliegenden Männchen anzubieten. Da die Optik der Blüte gegenüber der des Weibchens offenbar reizwirksamer ist (siehe unten), war es nötig, beide Duftsituationen mit identischer Optik zu versehen. Dazu habe ich in ein oben offenes Glasröhrchen ein virginelles Weibchen, in das andere eine *Ophrys speculum*-Blüte gegeben. Beide wurden dann oben mit je einer *Ophrys*-Blüte derselben Pflanze versehen, so dass fliegende Männchen nun die rechte Blüte zusätzlich mit Weibchenduft versehen, die linke mit nur Blütenduft versehen war. Anschließend wurden über einen Zeitraum von 100 Minuten die Anflugraten durch Männchen gezählt. Alle 30 Minuten wurden dazu die beiden Blüten um ca. 10 m versetzt, um in neue Männchen-Schwarmareale zu gelangen. Das Ergebnis war relativ eindeutig: beide Blütentypen wurden etwa gleich häufig gewählt, so dass man daraus den Schluss ziehen kann, dass in dieser experimentellen Situation der Weibchenduft nicht reizwirksamer ist als der Blütenduft.

2.1.2. Optische Signale

Nachdem Insekten- oder hier Bienenmännchen der Duftfahne folgend ihren Weibchen so nahe gekommen sind, dass sie diese auch sehen können, folgen in der Kette der Paarungsauslöser optische Signale, die dem Männchen nicht nur genauer zeigen, wo das Weibchen sich befindet, sondern auch durch besondere optische Merkmale weiter signalisiert, ob es sich tatsächlich um ein arteigenes Weibchen handelt. Bislang gibt es keine spezifischen Untersuchungen, an welchen Formen oder Farben Männchen ihre Weibchen erkennen. Wir können daher vorläufig nur aus den zahlreichen Arbeiten zum Formen- und Farbensehen bei der Honigbiene und wenigen anderen Insekten auf einige basale Mechanismen schließen, die sicher auch für andere Insekten gelten (CHITTKA et al. 2001, BRISCOE & CHITTKA 2001). Etwas vereinfacht gesagt, nehmen wir (und wohl die meisten Wirbeltiere) unsere Welt als komplexe Bilder wahr, während Insekten offenbar ihre optische Welt „abstrakter“ sehen. Verhaltensbiologisch setzen sich Objekte außerdem aus einer Summe von Signalen zusammen, die nach einer Perzeption neuronal danach bewertet werden, ob sie „interessant“ oder „uninteressant“ sind, ob sie Auslösecharakter haben und/oder gelernt werden können. Dies ist für die Interpretation des Aussehens und der Färbungen der *Ophrys*-Blüten mit ihren Zeichnungsmustern von Bedeutung.

Auch wenn es bis heute kaum systematische Untersuchungen der Rolle der optischen Signale bei *Ophrys* gibt (KULLENBERG 1961, PAULUS 1988a), so können dennoch einige allgemeine Aussagen gemacht werden, die aber mehr Analogie- und Plausibilitätsschlüsse darstellen und erst experimentell genauer geprüft werden müssen.

Bei einer vergleichenden Betrachtung von *Ophrys*-Labellummustern und der nahe liegenden Annahme, dass sie die Flügel der Bestäuberweibchen mit ihrem Glanz imitieren, kann man drei Blütenfarb- und Zeichnungsmustertypen unterscheiden. Sie sind vermutlich ein Ausdruck dafür, welche Rolle optische Signale für die Weibchenerkennung im normalen Leben der Bestäubermännchen spielen. Grundlage dieser Hypothese ist die Annahme, dass Bestäubermännchen zumindest

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

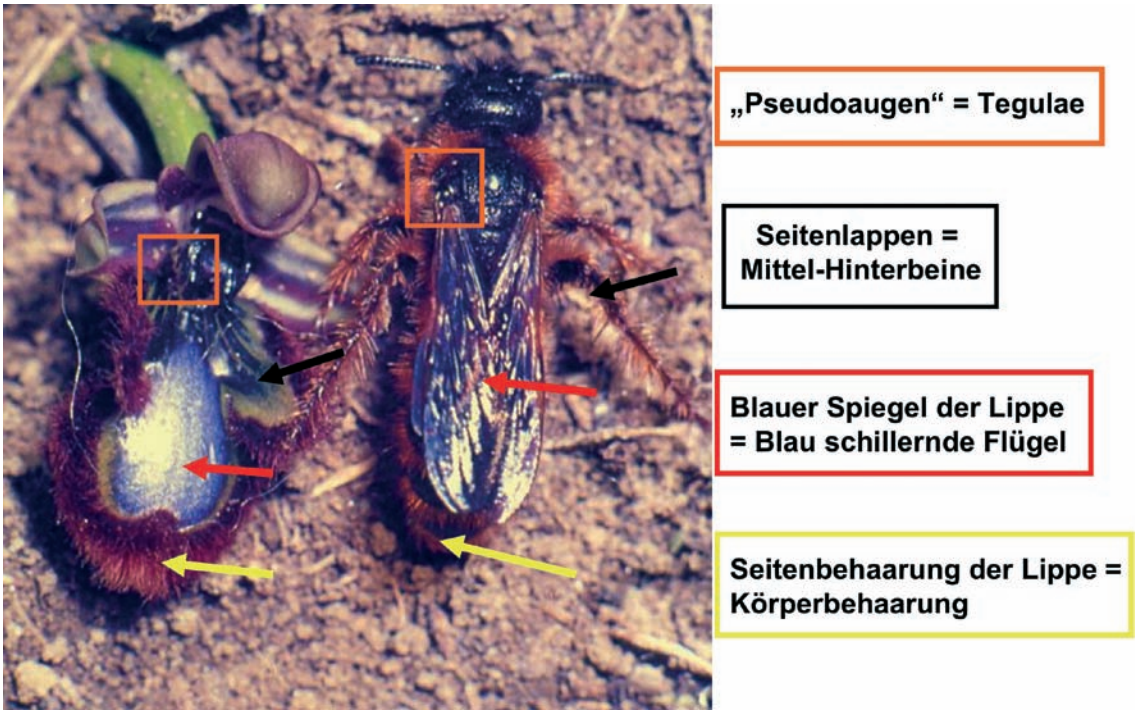

Abb. 3: Vergleich der Blüte der Spiegelragwurz *Ophrys speculum* mit dem Weibchen des Bestäubers *Dasyscolia ciliata* (Scoliidae). Die Ähnlichkeit ist auch für unser menschliches Auge verblüffend.

Abb. 4: Vergleich der Blüten von *Ophrys speculum* ssp. *speculum* (Westrasse) mit dem Bestäuberweibchen (*Dasyscolia ciliata* ssp. *ciliata*) (unten) und *O. speculum* ssp. *orientalis* (Ostrasse) mit dem Weibchen der Ostrasse von *Dasyscolia ciliata* ssp. *araratensis*. Die Blüten der Ostrasse sind entsprechend dunkler, da die Männchen als Bestäuber diese so selektiert haben (nach PAULUS 2001b).

diejenigen optischen Signale bei ihren Blüten selektieren, die sie aufgrund ihrer Weibchenerwartung (also der optischen AAM's für ihre Weibchen) als Minimum für die Weibchenerkennung benötigen. Wenn die optische Weibchenerkennung detailliert ist, nehmen wir an, dass auch die *Ophrys*-Blüten davon mehr imitieren müssen, um angeflogen und im Vergleich zwischen den Artgenossen eventuell häufiger bestäubt zu werden. Dies entspricht im Rahmen der sexuellen Selektion einem „male choice“ Verhalten. Dieser Hypothese liegt auch zugrunde, dass Evolution opportunistisch arbeitet, so dass durch Selektion nur soviel hervorgebracht werden sollte, wie unbedingt notwendig ist. Die hier wirksame Selektion ist eine Form intersexueller Selektion, da Bestäubermännchen zwischen den Blüten einer Art so wählen, dass die jeweils weibchenähnlichste den höchsten Bestäubungserfolg haben sollte (PAULUS 1988a).

Beim Typ 1 scheinen optische Signale im Sexualleben der Bestäubermännchen eine große Rolle zu spielen, so dass die *Ophrys*-Blüten darauf hin selektiert worden sind, auch für unser Auge nachvollziehbar bedeutend weibchen-ähnlicher zu sein. Hierher gehört als Paradebeispiel *Ophrys speculum* (= *vernixia*) als diejenige Art, an der POUYANNE (1917) sicherlich bezeichnender Weise das Phänomen als erster entdeckt und richtig erkannt hatte (PAULUS 1978, PAULUS & GACK 1980). Wenn man das Artenpaar *O. speculum* und das Bestäuberweibchen *Dasyscolia ciliata* vergleichend betrachtet, kann man leicht erkennen, dass der blaue Spiegel der Blütenlippe eine Imitation des blauen Flügelglanzes, die fuchsrote Labellumbehaarung eine solche der Körperbehaarung des Weibchens darstellt. Die Seitenlappen sind

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

vermutlich die Mittel- und Hinterbeine des Weibchens. Welche weiteren Details hier ebenfalls wichtig sind, ist nicht untersucht. Auffällig sind bei vielen *Ophrys*-Arten die rundlichen, meist glänzenden Basalschwielen (Staminodialpunkte). Sie wurden von DARWIN (1862) fälschlich als die Sprengel'schen Scheinnektarien oder später von vielen Autoren häufig als Augenimitationen interpretiert. Tatsächlich handelt es sich eher um die Imitation der Schüppchen über der Flügeleinlenkung des Bestäuberweibchens, um die sogenannten Tegulae (Abb. 3). Dass diese fuchsrote Lippenbehaarung tatsächlich die entsprechende Körperbehaarung des Weibchens imitiert, geht auf verblüffend plausible Weise daraus hervor, dass dieser Fäbungstyp nur für die westmediterranen *Dasycolia ciliata* ssp. *ciliata* zutrifft. Die ostmediterrane Rasse dieser Art, *D. ciliata* ssp. *araratensis*, ist dagegen dunkel-braunrot gefärbt. Dementsprechend ist auch die Lippenfärbung der ostmediterranen Spiegelragwurz deutlich dunkler (*O. speculum* ssp. *orientalis*, PAULUS 2001b) (Abb. 4).

Der zweite Typ repräsentiert solche *Ophrys*-Arten, die für unser Auge bereits deutlich weniger Insektenähnlichkeit aufweisen. Sie zeigen aber Farb- und Zeichnungsmuster, die mit den Bestäuberweibchen verglichen doch noch klare Hinweise erkennen lassen. Beispiele sind *Ophrys cretica*, *O. ariadnae* oder *O. kotschyi*, die mit ihren schwarz-weiß gemusterten Lippen die entsprechende Färbung und Musterung der Bestäuberweibchen der Gattung der Kuckucksbienen *Melecta* (Anthophoridae) imitieren (PAULUS & GACK 1983b, 1990a, b, PAULUS 1988b) (Abb. 5a, b). Ähnliches gilt auch für *O. reinholdii* mit der mit *Melecta* sehr nah verwandten Gattung *Eupavlovskia* (PAULUS & GACK 1990a, b). Die Weibchen der Mörtelbienen-Gattung *Chalicodoma* (Megachilidae) sind meist blauschwarz gefärbt und haben dunkelblau schillernde Flügel. Entsprechend dunkel sind die Lippen von *O. atlantica*, *O. bertolonii*, *O. aurelia*, *O. benacensis* oder *O. ferrum-equinum* gefärbt. Sie haben alle außerdem ein leuchtend dunkelblaues Mal, das im Spitzendrittel der Lippe liegt. Sie werden nämlich von *Chalicodoma parietina* bestäubt, deren Männchen allerdings rotbraun gefärbt sind (BÜEL 1978, PAULUS & GACK 1981, VÖTH 1984). In diese Kategorie gehören auch die von blauschwarz glänzenden *Xylocopa*-Arten bestäubte *Ophrys*-Arten (*O. spruneri*, *grigoriana*, *sipontensis*, PAULUS & GACK 1990b, c). Zumindest von *Xylocopa violacea* wissen wir, dass der blauschwarze Schiller der Flügel eine hohe optische Attraktion auf Männchen hat. Dieser Blauschiller ist außerdem durch UV- und sicher auch durch Polarisations-Reflexion verstärkt. Dazu passt, dass die Malzeichnungen auf den *Ophrys*-Lippen stets im UV reflektieren (KULLENBERG 1961 und eigene Untersuchungen). Dies spricht dafür, dass das Lippenmal stets eine optische Imitation der Flügel mit ihren Reflexionen ist.

Abb. 5: Die meisten *Ophrys*-Arten zeigen in der optischen Weibchen-Imitation lediglich eine Übereinstimmung in der Gesamtfärbung. So sind die Blüten von *Ophrys ariadnae* (Aquarell von Hans R. Reinhard aus Zürich) schwarz-weiß gemustert, da auch die Bestäuberweibchen von *Melecta albifrons* so gefärbt sind (oben). *Ophrys mammosa* ist sehr dunkel, da ihr Bestäuber die schwarze *Andrena fuscosa* ist (Mitte), während *Ophrys sphegodes* mittelbraun gefärbt ist, da der Bestäuber *Andrena nigroaenea* ebenso gefärbt ist (unten).

UV hat bekanntermaßen für Bienen einen hohen Reizwert und wird auch bei anderen Blüten vor allem im Bereich der Blütenmale zur Kontrastverstärkung eingesetzt (LUNAU et al. 1996, LUNAU 2000). Bei den hier erwähnten Färbungstypen können wir auch schöne Fälle von Konvergenzen in den Labellum-Grundfarbtypen finden. Es handelt sich um solche nicht näher verwandte *Ophrys*-Arten, die in Anpassung an dieselbe Bestäuberbiene ähnliche oder identische Labellumtypen evolviert haben. Hierher gehören *Ophrys bertolonii* – *O. ferrum-equinum* und *O. atlantica* oder *O. cretica* – *O. kotschyi* – *O. reinholdii* (PAULUS & GACK 1984, 1990a, 1994).

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

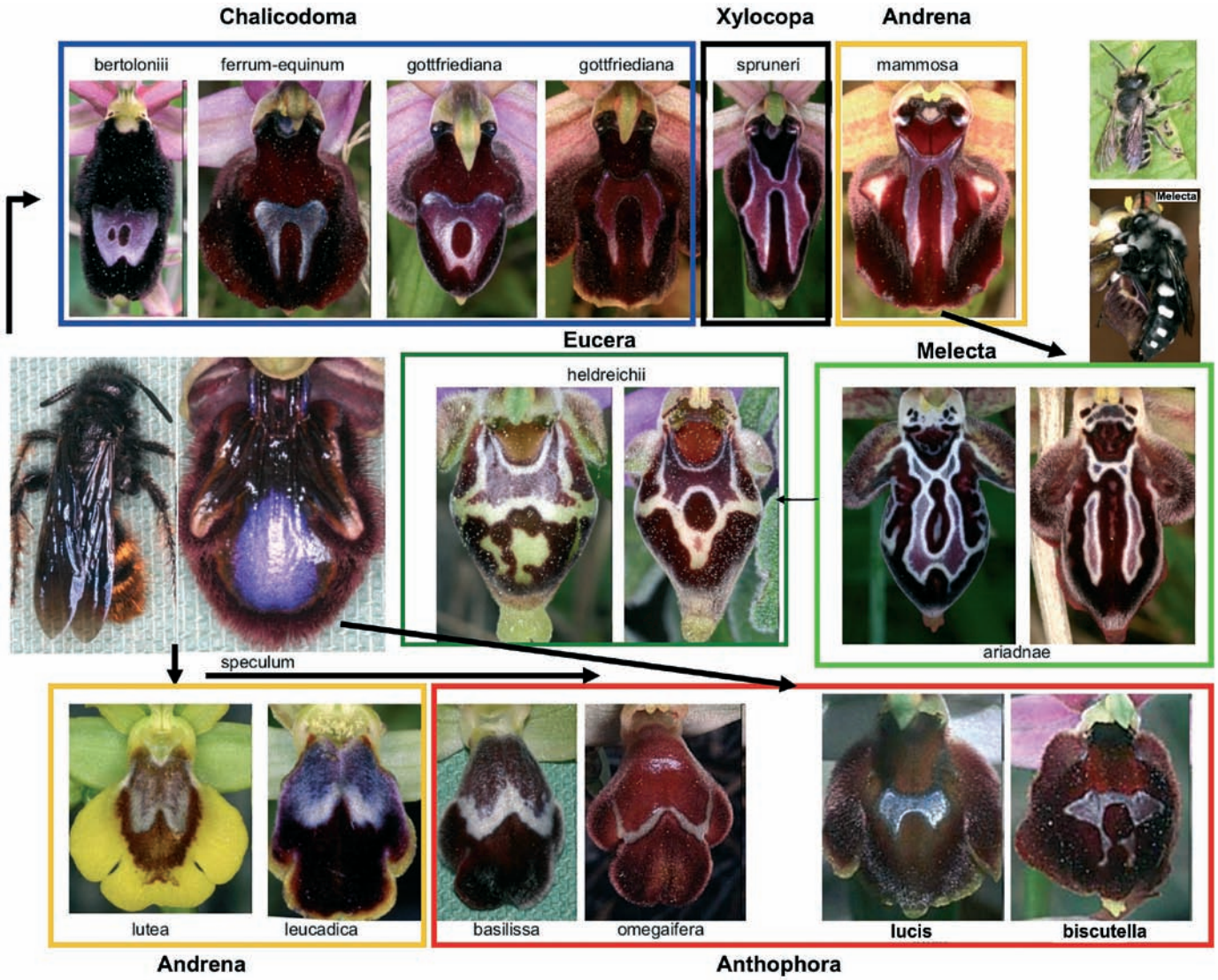

Abb. 6: Gestaltung des Males auf dem Labellum verschiedener *Ophrys*-Arten. Die Grundhypothese ist, dass alle Male Imitationen der Flügel oder des Flügelglanzes der Bestäuberweibchen darstellen (siehe Abb. 3). Ursprünglich waren entweder großflächige Male (*O. speculum* oder *O. fusca*-Gruppe) oder so genannte Hosenträger-Male (*O. sphegodes-mammosa*-Gruppe, hier *O. spruneri* und *O. mammosa*). Davon abgeleitet sind entweder Verkürzungen auf kleine zentrale Flächen (*Chalicodoma* bestäubte Arten: *O. bertolonii*, *O. ferrum-equinum* oder *O. gottfriediana* bzw. *Anthophora* bestäubte Arten: *O. lucis* oder *O. biscutella*). Gelegentlich treten ursprüngliche Male noch innerhalb der Arten als Variation auf (hier bei *O. gottfriediana*). In der *fusca-lutea*-Gruppe findet oft eine Reduzierung auf einen hellen Rand des Males statt, z. B. *Omega*-Male. Bei hoch lernfähigen Bestäubern, bei denen die Optik der Flügel eine Rolle spielen, lösen das Mal in individualisierbare komplexe Muster auf. Dies ist sehr verbreitet in der *O. holoserica-oestrifera*-Gruppe (hier am Beispiel *Ophrys heldreichii*), die nahezu alle von Langhornbienen (*Eucera*, *Tetraloniella*) bestäubt werden oder bei *Ophrys ariadnae-cretica* mit ihren Bestäubern aus der Gattung *Melecta*. In allen Fällen wissen wir wenig oder nichts über die visuellen Fähigkeiten oder Präferenzen der Bestäubermännchen.

Der dritte *Ophrys*-Färbungstyp imitiert nur noch die allgemeine Grundfärbung der Bestäuberweibchen. Hierher gehören die meisten Vertreter der von *Andrena*-Arten bestäubten *Ophrys*-Arten (O. *fusca*-aggr., O. *sphegodes*-aggr.). So entsprechen die Lippen von O. *sphegodes* (s.str.) dem rotbraunen oder graubraunen Kolorit des Bestäuberweibchens *Andrena nigroaenea* (PAULUS & GACK 1986, PAULUS 1988b), während das sehr dunkle schwarzbraune Kolorit von O. *mammosa* oder O. *incubacea* der schwarzen Körperfärbung von *Andrena fuscosa* bzw. *A. morio* entspricht (PAULUS & GACK 1983b, 1986) (Abb. 5c-f). Ähnliches gilt auch für O. *spruneri*, O. *grigoriana* oder O. *sipontensis*, die von blauschwarzen Arten der Gattung *Xylocopa* bestäubt werden (PAULUS & GACK 1990b, c).

Dieses Prinzip der Passung der Allgemeinfärbung der Biene und ihrer *Ophrys*-Art ist meist im Vergleich nah verwandter Artenpaare, in einem Fall sogar innerhalb einer einzigen Art beobachtbar. Ein Beispiel für den interspezifischen findet sich in Kreta bei dem Artenpaar O. *omegaifera* (Lippengrundfarbe kastanienbraun) und O. *fleischmannii* (Grundfarbe dunkeloliv-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

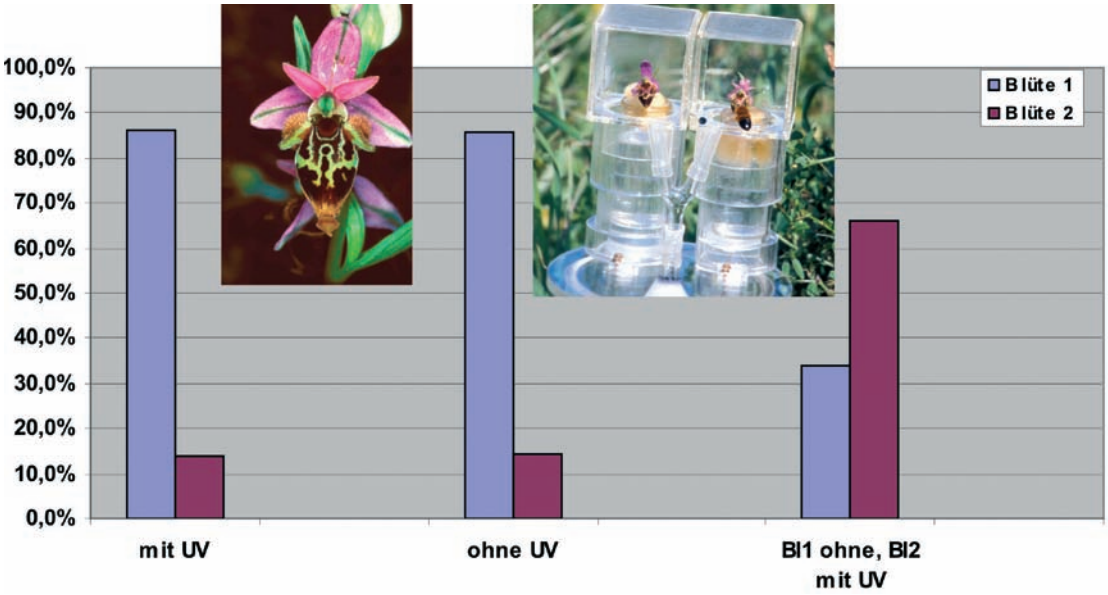

Abb. 7: Wahlhäufigkeiten von *Eucera berlandi*-Männchen zwischen *Ophrys heldreichii*-Blüten hinter Glas (zur Abschirmung des eigenen Duftes). Ihnen wurden zwei Blüten verschiedener Pflanzenindividuen simultan (nebeneinander) geboten entweder beide Blüten hinter Glas, das kein UV durchließ oder beide Blüten hinter UV durchlässigem Glas. In früheren Experimenten konnte gezeigt werden, dass in solchen Fällen stets eine der beiden Blüten deutlich bevorzugt wird (siehe Abb. 26) In beiden Testsituationen wurde tatsächlich eine der beiden Blüten häufiger gewählt und zwar unabhängig, ob sie mit UV oder ohne UV präsentiert wurde. Wenn man anschließend die unattraktivere Blüte zur Wahl mit den vorher attraktiven stellt, jetzt aber die unattraktive mit UV, die andere ohne UV anbietet, wird jetzt die mit UV bevorzugt (dritten Säulen rechts)(Summe n=202 Anflüge). Dies zeigt, dass die UV-Reflexion des Males die Attraktivität erhöht.

braun). Die Bestäuberweibchen der jeweiligen Arten der Pelzbienengattung *Anthophora* sind entsprechend gefärbt: *Anthophora dalmatica* (= *atroalba* ssp. *agamoides*) als Bestäuber von O. *omegaifera* ist rotbraun, A. *sicheli* als der von O. *fleischmannii* ist grauolivbraun (PAULUS & GACK 1983a, 1986). Der intraspezifische Vergleich zwischen allopatrisch vorkommenden, abweichend gefärbten Subspezies von *Ophrys speculum* und ihrem Bestäuber *Dasyscolia ciliata* wurde schon geschildert.

Andere Zeichnungsbesonderheiten scheinen die sogenannten „Brillenmale" (O. *argolica*-aggr.: O. *argolica*, *delphinensis*, *biscutella* oder *morisii*) bzw. „Omega-Male" von O. *omegaifera*, *basilissa*, *dyris* und O. *fleischmannii*, die alle von Arten der Gattung *Anthophora* bestäubt werden. Experimente zur Bedeutung des Omega-Mals hierzu liegen allerdings nicht vor (Abb. 6).

Die hohe Reizwirksamkeit der UV-Reflexion der Lippenmale wurde in einigen Experimenten getestet. Hierzu wurden 2 Einzelblüten in je ein Glaskästchen gegeben und von außen über ein Y-Rohr zu beiden Blüten identischer *Ophrys*-Blütenduft gegeben. Dadurch waren die Blüten selbst nicht duftend. Diese wurden frei fliegenden Männchen zur Wahl geboten. Wenn Wahlen stattfanden, dann mussten diese allein aufgrund der Optik erfolgt sein. Die Frontscheiben der Glaskästchen bestanden aus normalem Plexiglas oder aus UV durchlässigen Kunststoff. So konnten anfliegenden Männchen immer zwei Blüten zur Wahl geboten werden und dabei die Bedeutung der UV-Reflexion der Lippen getestet werden.

Resultate dieser Wahlexperimente zeigten, dass Lippen mit UV im Vergleich zu solchen ohne UV reflektierenden Mal für die Männchen attraktiver sind. Interessant ist hierbei, dass dies nur im unmittelbaren Vergleich gilt. Wenn man im Experiment Männchen von *Eucera* (*Synhalonia*) *berlandi* (Anthophoridae) zwischen zwei simultan gebotenen duftfreien Blüten wählen lässt, wird nur dann eine bevorzugt, wenn eine der beiden im UV reflektiert. Im anderen Fall wird die Blüte gewählt, die die Männchen vorher noch nicht gesehen hatten (Abb. 7). Auf diese Lernexperimente gehe ich weiter unten ein. Ähnliche Experimente führten wir mit *Ophrys speculum*-Blüten und ihren Bestäubermännchen, *Dasyscolia ciliata*, in Mallorca durch. Auch zeigte sich, dass Blüten mit UV gegenüber solchen, bei denen die UV-Reflexion abgeschirmt war, bei weitem häufiger angeflogen wurden (Paulus & Ettenauer, in Vorbereitung).

KULLENBERG (1949, 1961) hatte bereits versucht in einfachen Freilandexperimenten zu zeigen, dass die Blüten als übernormale optische Auslöser fungieren. In Wahlexperimenten bot er *Ophrys lutea*- oder O. *speculum* (= *vernixia*)-Blüten neben den Bestäuberweibchen anfliegenden Männchen an. Sie wählten ganz überwiegend die Blüten als Kopulationspartner. So bestechend das Ergebnis klingt, das Experiment war nicht aussagekräftig. Die zur Wahl gebotenen Weibchen waren nämlich nicht zweifelsfrei noch unbegattet. Da Weibchen nach einer Begattung ihre Attraktivität verlieren, ist es verständlich, dass Männchen in den genannten Experimenten stets die Blüten wählten. Nur sie rochen nach unbegatteten und daher attraktiven Weibchen.

Wir haben daher solche Experimente mit der Duft-Abschirmapparatur wiederholt. Hier wurden Blüten von *Ophrys* und tote Weibchen von Bestäuberweibchen

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

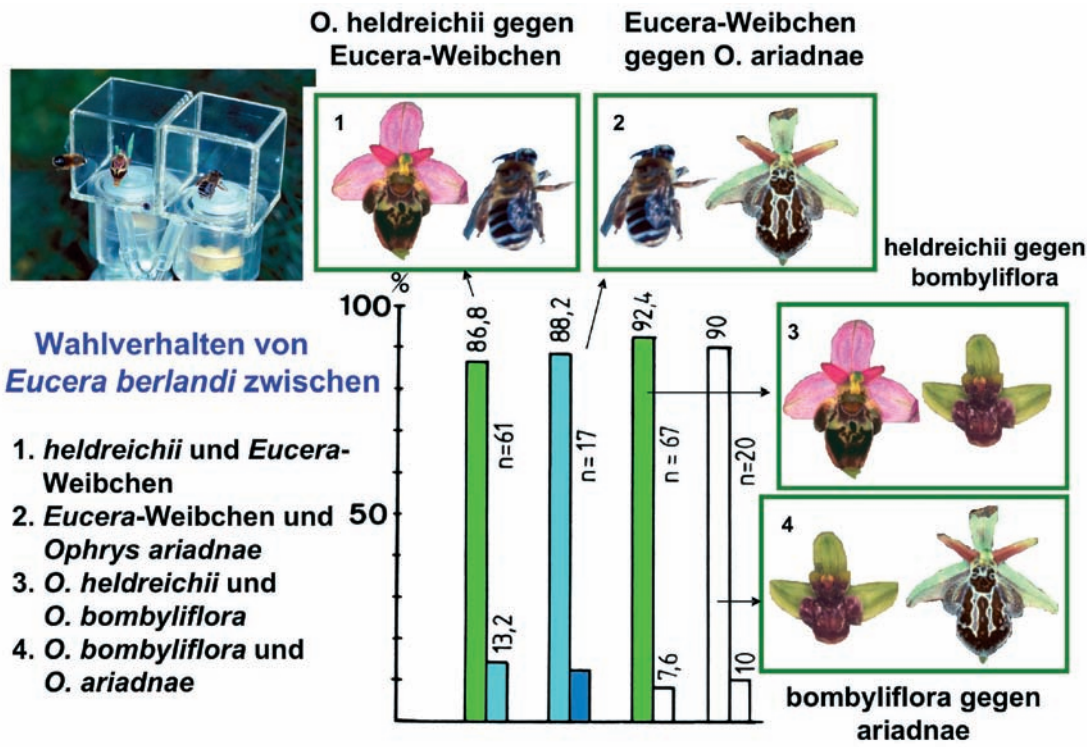

Abb. 8: Experimentelle Tests zur Ermittlung der auf die optischen Signale beschränkten Wahlspezifität von *Eucera berlandi*-Männchen: (**1**) *Ophrys heldreichii*-Blüte gegenüber dem arteigenen Weibchen, (**2**) dem arteigenen Weibchen gegenüber einer „falschen" *Ophrys*-Blüte (hier *O. ariadnae*), (**3**) *O. heldreichii*-Blüten gegenüber einer anderen von einer anderen *Eucera* bestäubten *O. bombyliflora* und (**4**) *O. heldreichii* gegenüber *O. ariadnae* (*Melecta* bestäubt!). Die Unterschiede in den Wahlhäufigkeiten sind in den Säulendiagrammen dargestellt. In Experiment 1 wurde die Blüte gegenüber dem arteigenen Weibchen deutlich bevorzugt. In 2 dagegen wurde das Weibchen doch gegenüber der „falschen" *Ophrys* häufiger gewählt. Dies zeigt, dass die Weibchen sehr wohl erkannt worden sind. In 3 wurde *O. heldreichii* bevorzugt gegenüber *O. bombyliflora*. Interessant ist das Ergebnis in 4: Die von einer anderen *Eucera* bestäubte *Ophrys bombyliflora* ist in ihrer Optik attraktiver für *Eucera berlandi* als die von einer *Melecta* bestäubte *O. ariadnae.*

duftabgeschirmt den frei fliegenden Männchen zur Wahl geboten. Beide Objekten wurde von außen über ein Y-Rohr mit Blütenduft versehen. Entsprechende Wahlexperimente wurden in Kreta mit dem Artenpaar *Ophrys heldreichii* und ihrem Bestäuber *Eucera* (*Synhalonia*) *berlandi* (= *Tetralonia*) (Anthophoridae) (PAULUS 1988a) bzw. in Mallorca mit *Ophrys speculum* und *Dasyscolia ciliata* durchgeführt. Die Resultate entsprachen in beiden Fällen denen von Kullenberg. Die Blüten wurden bei weitem häufiger angeflogen. Nur jetzt können wir sicher sein, dass die Männchen allein nach der Optik gewählt hatten (Abb. 8).

Nach zahlreichen Freilandbeobachtungen kann ich sagen, dass unbegattete *Dasyscolia ciliata*-Weibchen ihre Paarungsbereitschaft nicht nur über ihr Sexualpheromon signalisieren, sondern auch durch eine Zur-Schau-Stellung ihrer blau schillernden Flügel. Sie werden nämlich dicht auf den Körper gelegt, so dass sie mit der ganzen Fläche leuchten können. Umgekehrt werden die Flügel hochgestellt. Gleichzeitig werden sie rhythmisch auf und ab bewegt, so dass Männchen aus diesem optischen Bewegungssignal bereits schließen können, dass dieses Weibchen bereits begattet ist. Tatsächlich werden solche Weibchen kaum noch beachtet.

Aus diesen Beobachtungen und den vergleichenden Betrachtungen der Blütenmale muss man folgern, dass sie die Flügel der Bestäuberweibchen mit ihrem Glanz oder Reflexionserscheinungen imitieren. Aus der Vielfalt der Malformen bei den verschiedenen *Ophrys*-Arten darf man auf eine entsprechende Vielfalt der optical cues in der Männchen-Anlockung schließen. Besonders interessant scheinen mir hier die hochkomplexen Malmuster in der *Ophrys holoserica-scolopax*-Gruppe zu sein. Hier gibt es komplizierte mäandrierende, asymmetrische Zeichnungsmuster auf dem Labellum, die von Blüte zu Blüte so verschieden sind, dass in einer Population der Hummelragwurz keine zwei Pflanzen mit identischen Mustern vorkommen (Abb. 6). Da diese Muster nach allem was wir jetzt sagen können, Flügelimitationen sind, könnten diese komplexen Zeichnungen Licht-Reflexionsmuster sein. Da auch sie stets stark im UV reflektieren, werden sie von den Männchen auch sehr gut gesehen. Wie in späteren Experimenten noch zu zeigen sein wird, werden diese Muster von den Männchen individuell gelernt und wieder erkannt, um einmal bereits erfolglos besuchte Weibchen/Blüten in Zukunft zu vermeiden, da sie diese verständlicher Weise als unattraktiv interpretieren. Da die Chance überhaupt zu einer Paarung zu gelangen prinzipiell gering ist, sollten Männchen unattraktive Weibchen meiden, da sie in derselben Zeit vielleicht ein attraktives Weibchen finden könnten.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Abb. 9: Beispiel für Abdomenpollination: *Andrena flavipes* sitzt verkehrt auf *Ophrys israelitica* (Zypern) und erhält daher die Pollinarien auf den Hinterleib (links). Kopfpollination am Beispiel von *Andrena nigroaenea* auf *Ophrys grammica* (= *herae* auct.) (Kreta). Hier werden die Pollinarien auf dem Kopf angeklebt (Mitte). In einigen Fällen haben zwei verschiedene *Ophrys*-Arten denselben Bestäuber. Dies funktioniert bei syntoper Verbreitung ohne Hybridisierung nur, wenn die eine *Ophrys*-Art Kopf-, die andere Abdomen-Pollination betreibt. Gezeigt ist das Beispiel aus Südfrankreich mit *Andrena nigroaenea* auf *Ophrys lupercalis* (Abdomenpollination) (rechts). Das Männchen trägt aber bereits andere Pollinarien am Kopf, die von *Ophrys sphegodes* stammen.

2.1.3. Taktile Reize

Wenn Bienen- oder Wespenmännchen ein Weibchen gefunden haben und nach einer Landung Kopulationsversuche machen, treten weitere wichtige Auslösersignale in Aktion: Durch Berührung mit den Tarsen und dem Körper wird das Weibchen-Haarkleid, sein Haarstrich, sicherlich auch weitere kontaktchemosensorische Signale wahrgenommen. Über den Haarstrich kann das Männchen sofort entscheiden, wo bei dem Weibchen hinten und vorne ist. Das kann sehr wichtig sein, wenn viele Männchen sich auf ein Weibchen gestürzt haben. Auch hier kommt es darauf an, wer der schnellste ist und seinen Kopulationsapparat einführen konnte. Der Apparat selbst scheint ebenfalls eine Reihe wichtiger taktiler Sinnesorgane zu besitzen, mit denen weitere spezifische Eindrücke registriert werden können. Leider gibt es auch hierüber keine genaueren Untersuchungen. Die *Ophrys*-Blüten scheinen auch hier wesentliche Signale zu imitieren (AGREN et al. 1984). Eindrucksvoll und auch leicht festzustellen ist der Einfluss des Haarstriches auf der Blütenlippe. Wie bereits KULLENBERG (1961) festgestellt hatte, zeigen alle *Ophrys*-Arten der *O. fusci-lutea* Sektion einen umgekehrten Haarstrich auf dem Labellum. Hier verlaufen die kurzen Drüsenhärchen vor allem im Randbereich von der Labellum-Spitze in Richtung Narbe. Bei allen anderen *Ophrys*-Arten sind diese Härchen von der Narbe zur Labellumspitze gerichtet. Dabei ist das Mal meist glatt. Der Effekt dieser Form der Behaarung ist sehr eindrücklich. Die Bestäubermännchen registrieren diesen Haarstrich nach der Landung sofort und drehen sich bei den *Ophrys*-Arten der *fusci-lutea* Sektion sofort um und kopulieren sozusagen verkehrt herum. Dies führt zu einer Pollinienentnahme mit der Hinterleibsspitze (Abdomenpollination) (Abb. 9a). Alle anderen *Ophrys*-Arten haben den „normalen" Haarstrich, so dass die Männchen einfach so sitzen bleiben und die Pollinien mit dem Kopf entnehmen (Kopfpollination) (Abb. 9b). Eine erste experimentelle Analyse der Haarstrich-Verhältnisse und ihrer taktilen Bedeutung liegt von PIRSTINGER (1996) an *Ophrys fusca* und *Ophrys sphegodes* vor, die beide dieselbe Bestäuberbiene *Andrena nigroaenea* als Pollinienüberträger haben, erstere durch Abdomen-, letztere durch Kopfpollination. Solche Bienenmännchen können vorne und hinten gleichzeitig Pollinien tragen (Abb. 9c).

Sehr wesentlich in diesem Zusammenhang ist außerdem die Größe des Labellums. Dieses muss ebenfalls gut mit der Körpergröße des Bestäubers zusammenpassen. Männchen, die zu groß oder zu klein sind, sind kaum in der Lage, Pollinien zu entnehmen und damit als erfolgreiche Bestäuber zu fungieren. So kann man im Freiland gelegentlich Anflüge durch fremde Bienen oder sogar andere Insekten beobachten, die aber nicht in der Lage sind, eine geeignete Position auf der Lippe einzunehmen. Sie tänzeln dann meist auf der Blüte herum, um dann wieder abzufliegen, ohne mit den Klebscheiben der Pollinien in Berührung gekommen zu sein. Daraus resultiert eine Selektion auf gute Größenpassung zwischen Labellumlänge und Bestäuberkörpergröße. In Abb. 10 ist diese gute Korrelation der Passungen für eine Reihe von Artenpaaren dargestellt.

3. Die Spezifität der Bestäuber

Da normalerweise jede *Ophrys*-Art die spezifischen artisolierenden Signale einer Bestäuberart (selten auch weniger verwandter Arten) kopiert, ist auch die Beziehung *Ophrys*-Art/Bestäuber-Art ja beinahe notgedrungen hochspezifisch. Eine Mimikry funktioniert dann am besten, wenn der Nachahmer sich auf ein einzige Art als bestimmtes Vorbild beschränkt. Die Imitation von meh-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

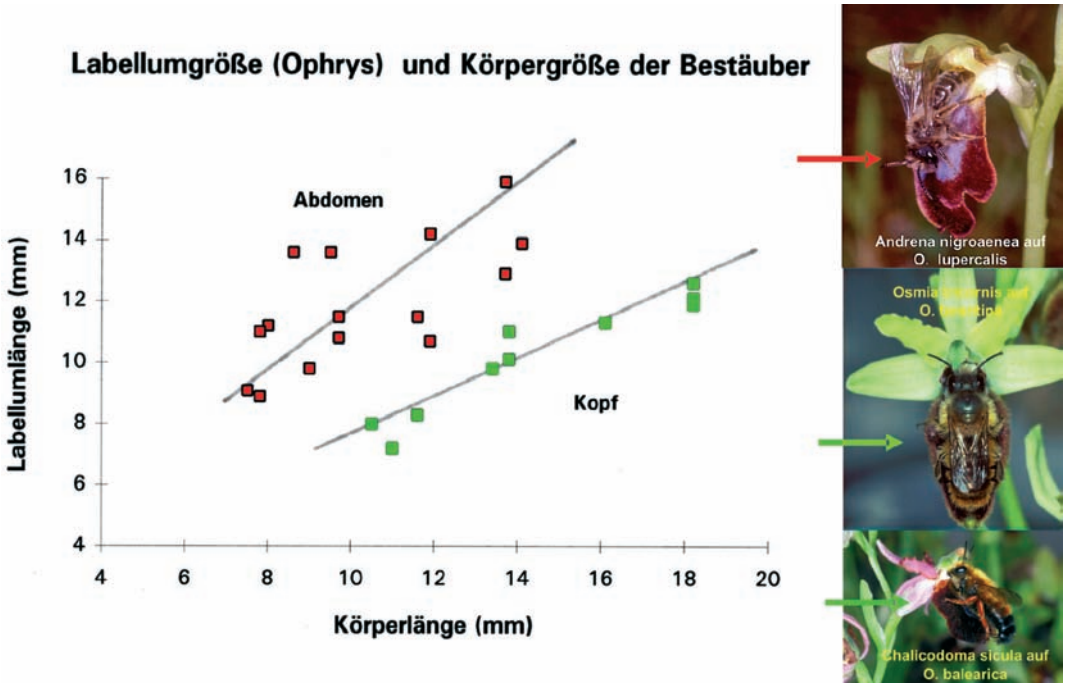

Abb. 10: Korrelation der Körpergröße von Bestäubermännchen mit ihren *Ophrys*-Blüten getrennt aufgetragen nach Kopf- und Abdomenpollinatoren. Jeder Punkt repräsentiert den Mittelwert aus jeweils10 Messungen pro Artenpaar. Man sieht, dass die Kopfpollinatoren mit den Lippenlängen ihrer *Ophrys*-Arten sehr gut korrelieren. Dies ist verständlich, da eine sichere Pollenübertragung nur gewährleistet ist, wenn das Bestäubermännchen sehr gut zur Länge der Blüte passt. Die beiden Beispielfotos Mitte und unten zeigen dies sehr schön. Bei den Abdomenpollinatoren ist die Streuung etwas größer, da es hier nicht so wichtig ist, wieviel Platz die Bestäubermännchen nach vorne noch haben (Foto oben).

reren Bestäuberweibchen-Arten kann notgedrungen als Kompromiss nur schlechter sein als diejenige von nur einer einzigen Art. Die hohe Spezifität ist natürlich eine Konsequenz einer ebenso spezifischen Bestäuberselektion. In einer zunächst Duft variablen *Ophrys*-Population sorgen eben nur die Männchen einer einzigen bestimmten Art für den Pollentransfer und damit für den Fortpflanzungserfolg. Durch diesen Besitz von nur einer Bestäuberart nutzt die betreffende *Ophrys*-Sippe den gut funktionierenden Artisolationsmechanismus des Bestäubers für sich (sie parasitiert sozusagen an den AAM's der Bestäuber). Bestäuber stellen daher für die *Ophrys*-Arten einen praegamen Isolationsmechanismus dar, der normalerweise durch seine hohe Spezifität eine Hybridisierung verhindert (PAULUS & GACK 1983b, 1990c). Genauer gesagt handelt es sich um einen Mechanismus, der sogar bereits vor der Bestäubung wirkt. Solche Mechanismen werden als „prepollinating mechanisms" bezeichnet (LEVIN 1978, STEBBINS 1966) und sind eine spezielle Form der prägamen genetischen Isolation.

Der Nachweis für die hohe Spezifität der *Ophrys*-Bestäuber-Beziehungen ist bereits für eine ganze Reihe von *Ophrys*-Arten erbracht worden (KULLENBERG et al. 1984; PAULUS 1988b, 1997; PAULUS & GACK 1981, 1983a, b, 1986, 1990a, Zusammenfassungen 1990b, c, d, 1994; VÖTH 1984, 1985, 1986, 1987; WARNCKE & KULLENBERG 1984). Sie haben gezeigt, dass die These: eine *Ophrys*-Art – eine Bestäuberart in der Regel erfüllt ist. Besonders unsere Freilandtests der vergangenen 10-15 Jahre im gesamten Mittelmeergebiet haben uns klar gezeigt, dass diese Bedingung praktisch immer gegeben ist. Dazu haben wir nicht nur die jeweiligen Bestäuber ermittelt, sondern stets auch, wo immer es möglich war, unter natürlichen Bedingungen im Freiland Wahltests gemacht („Biotest"). Eine bestimmte Bestäuberart konnte zwischen verschiedenen *Ophrys*-Arten frei wählen. Die Entscheidungen waren praktisch immer zu 100 % für eine einzige *Ophrys*-Sippe! Beispiele sind in den Abb. 11-15 dargestellt.

3.1. Irreguläre Besucher und Bestäuber

Neben diesen Bestäubern, die sozusagen legitim, weil durch Selektionsprozesse angepasst, gibt es allerdings auch immer wieder Besucher, die eigentlich nicht regulär, in unserer Terminologie illegitim sind. Ausführliche Beobachtungen gibt es praktisch nur bei mitteleuropäischen *Ophrys*-Arten. Durch eine intensive Studie durch KULLENBERG (1961: 36 f.) wird das Problem der Unterscheidung von nur Besuchern und echten Bestäubern von *Ophrys*-Blüten besonders deutlich. Er nennt in einer langen Liste über 70 verschiedene Insekten. Die überwiegende Mehrzahl dieser Arten war rein zufällige Besucher. Einige von ihnen zeigten sogar durch sichtbare Kopulationsversuche auf der Lippe ihre sexuelle Erregung (unter den Hymenopteren: *Crabro cribrarius* L., *Hoplomerus melanocephalus* GMEL., *Andrena ovatula* KIRBY (!), unter den Diptera: *Zelmira nemoralis* MEIG., *Hemipenthes morio* L., *Herina frondescentiae* L., *Sarcophaga carnaria* L.) und schließlich den mehr im Bergland verbreiteten Blatthornkäfer *Hoplia farinosa*. Diesen Käfer konnte auch ich einmal bei einer guten Pseudokopulation in O-Österreich sehen. Die Fleischfliege *Sarcophaga carnaria* hatte ja schon MÜLLER (1879) beobachtet und ihn zu der Annahme verleitet, die Fliegen-Ragwurz sei eine „Fliegenblume". Doch fanden dabei fast nie Pol-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

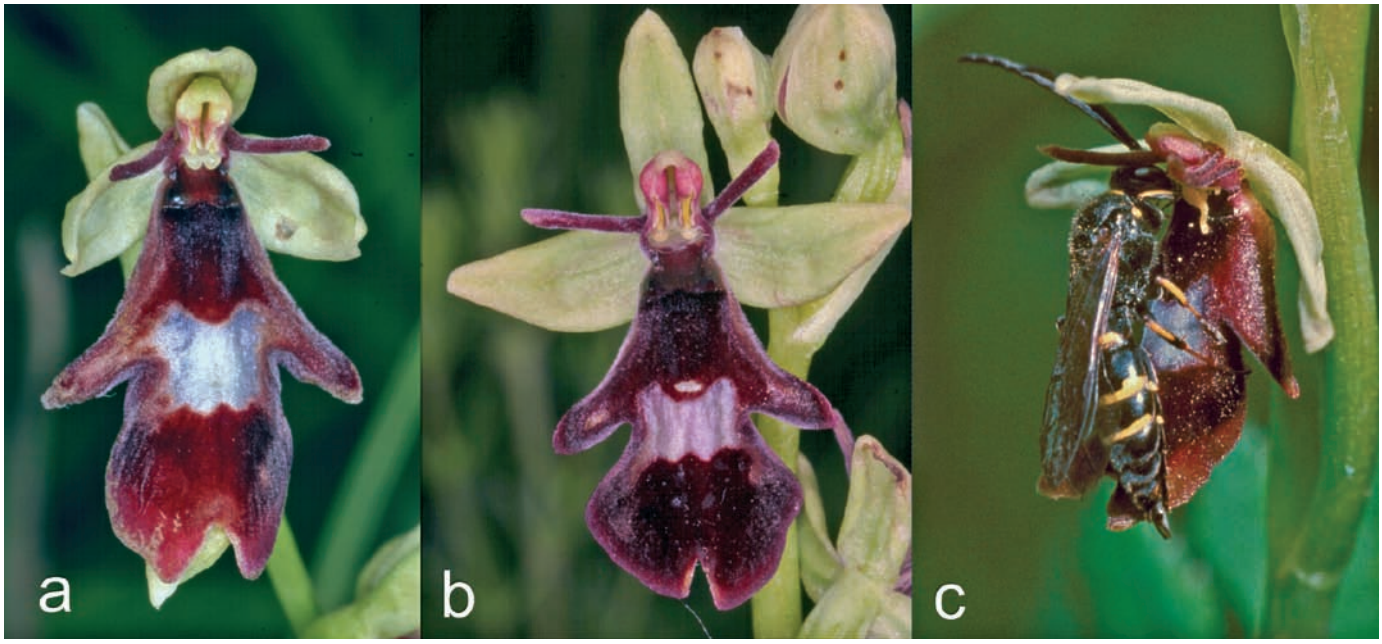

Abb. 11: Der Bestäuber der auch bei uns heimischen Fliegenragwurz *Ophrys insectifera* ist die Grabwespe *Argogorytes mystaceus*. Fotos: Schönberg bei Freiburg (a, c), Dabas südl. Budapest (b).

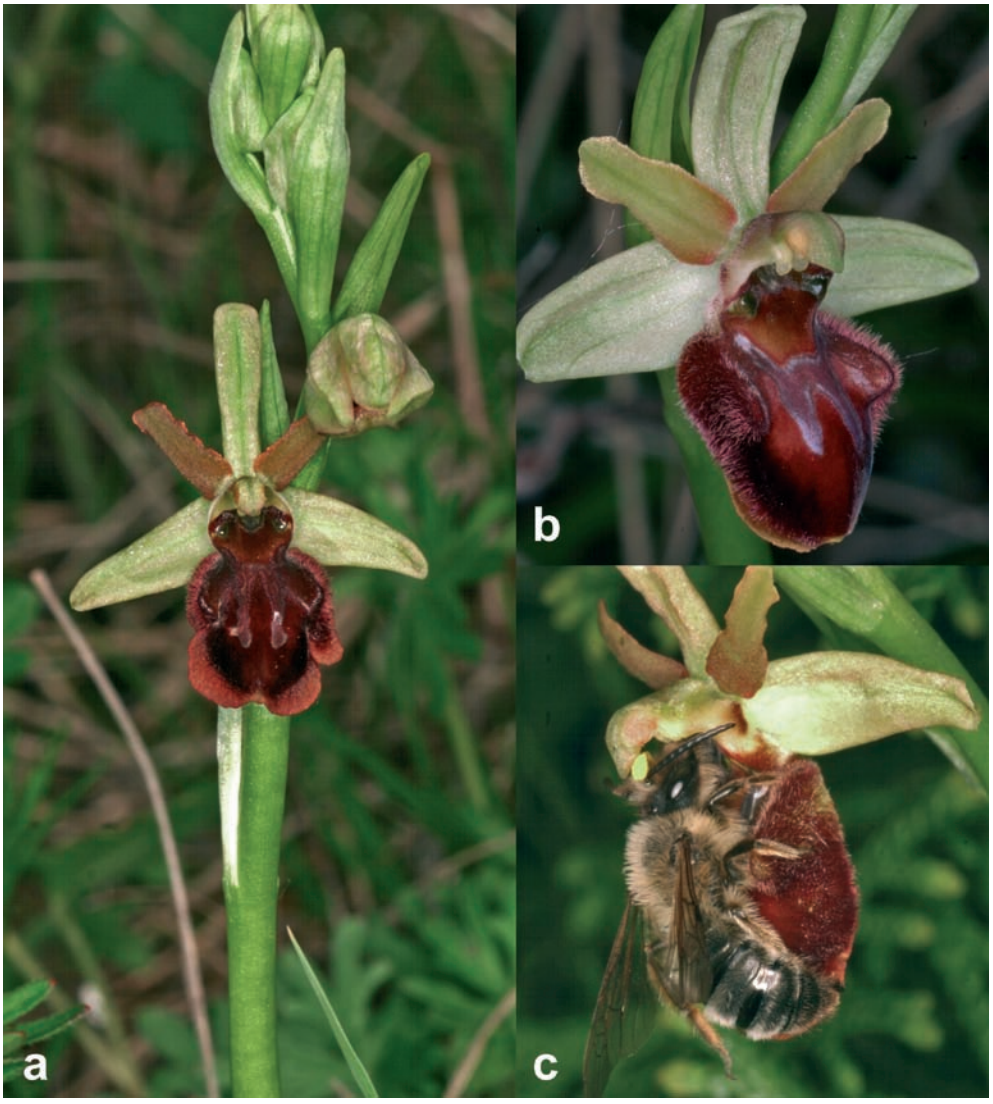

Abb. 12: Der Bestäuber der Spinnenragwurz *Ophrys sphegodes* ist die Sandbiene *Andrena nigroaenea*. Fotos: Bisamberg bei Wien.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Abb. 13: Die typische *Ophrys tenthredinifera* hat die Langhornbiene *Eucera nigrilabris* als Bestäuber. Fotos: Algarve Portugal, Februar 2006.

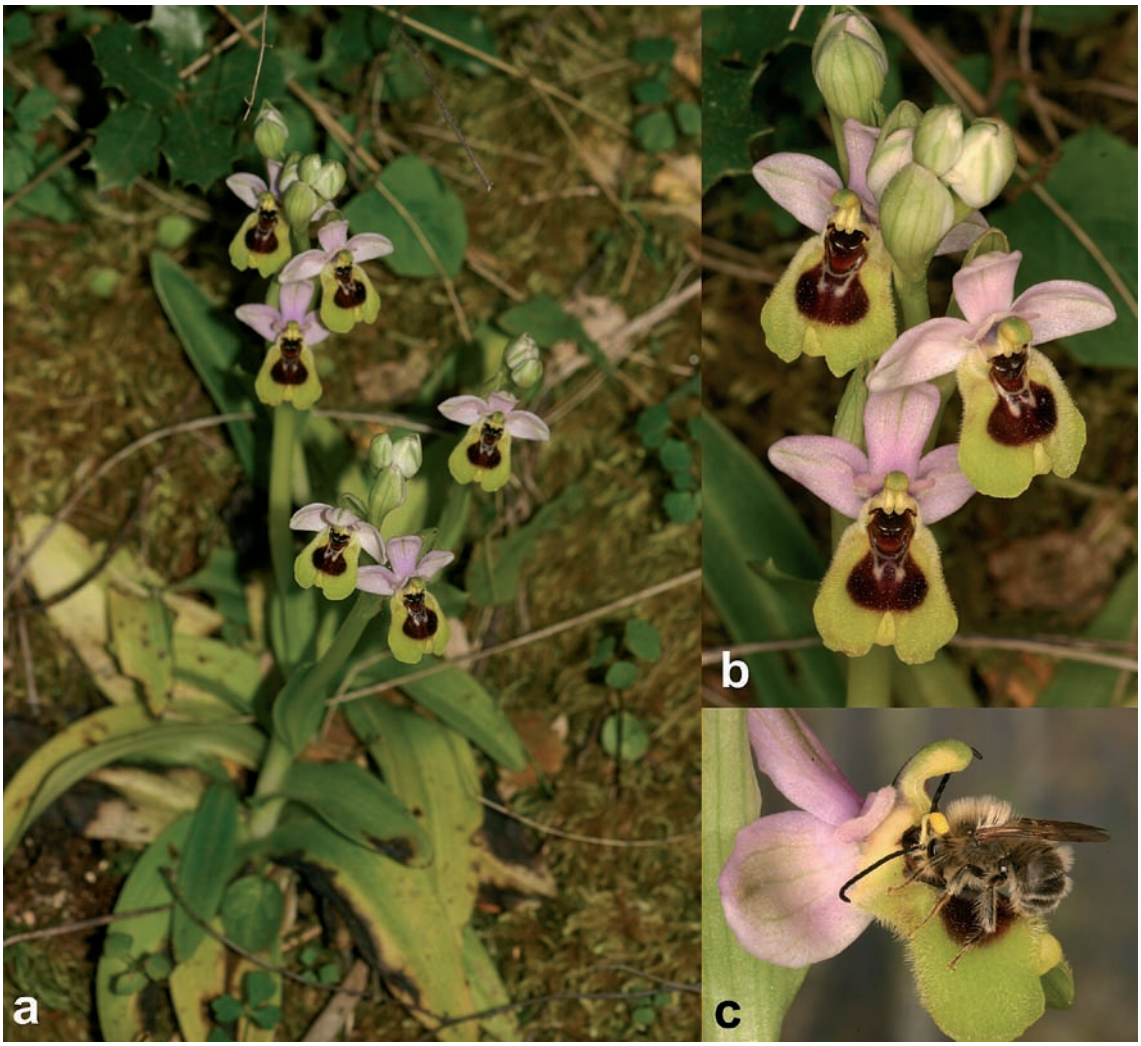

Abb. 14: Die erst kürzlich neu beschrieben *Ophrys ulyssea* Delforge aus Kephallonia ist eine nahe Verwandte von *O. tenthredinifera*. Sie ist aber deutlich kleinblütiger und hat die kleine *Eucera bidentata* als Bestäuber. Fotos: Kephallonia, Ende März 2005.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

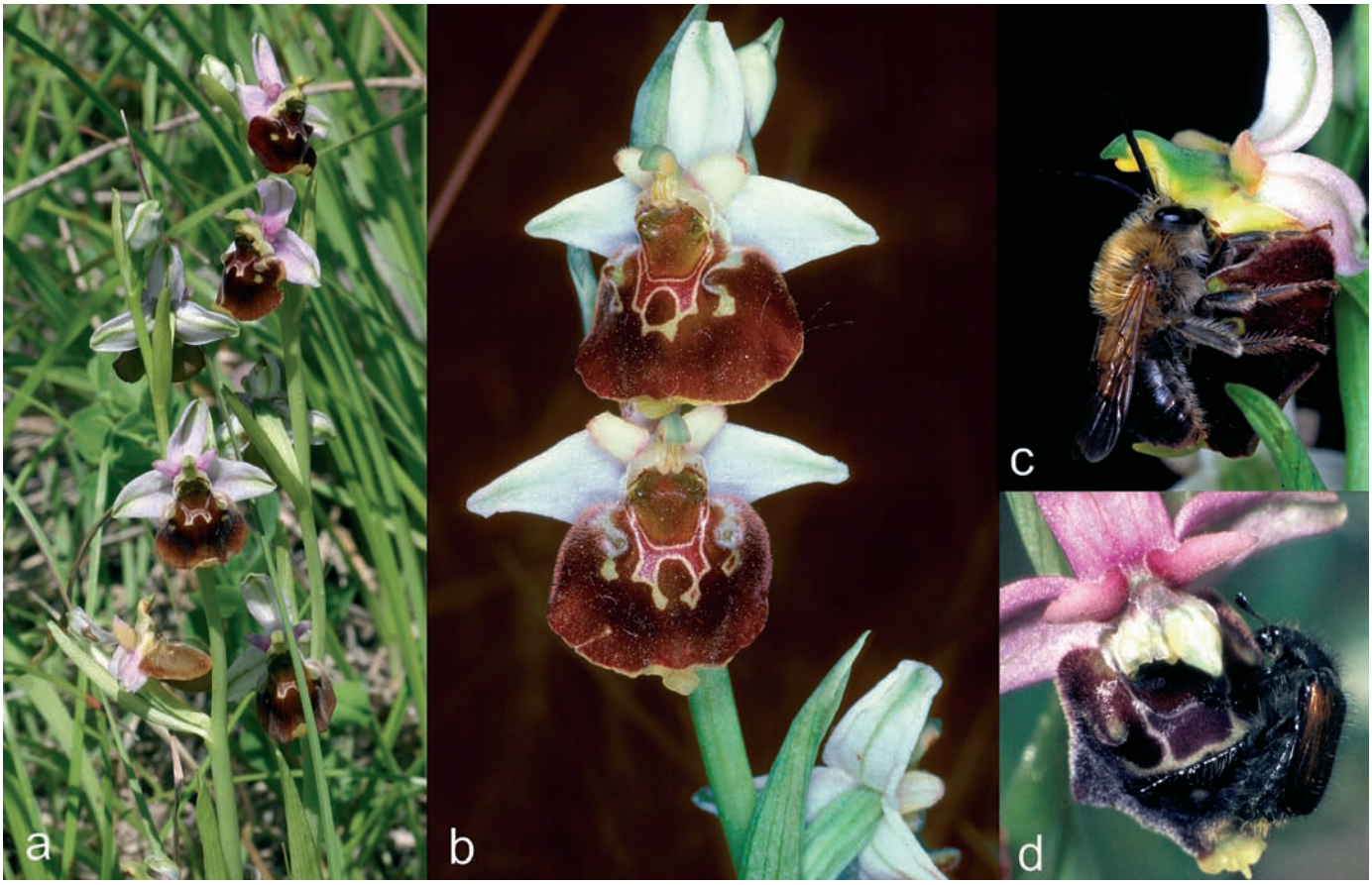

Abb. 15: Die Hummelragwurz *Ophrys holoserica* (**a**, **b**) hat die Langhornbiene *Eucera longicornis* (**c**) als wichtigsten Bestäuber (Fotos: Perchtolsdorf bei Wien Mai 2001). Nicht selten werden allerdings auch Männchen des Gartenlaubkäfers *Phyllopertha horticola* angelockt (**d**). Die kleinen Blatthornkäfer zeigen dann heftiges Pseudokopulationsverhalten und entnehmen dabei eher zufällig und ungezielt auch Pollinarien (Foto Taubergießen nördlich Freiburg, Juni 1978).

linienentnahmen statt. Unter den Käfern war der kleine Staphylinidae *Anthobium minutum* F. als häufiger Pollenfresser sogar gelegentlich fähig, Pollinien zu übertragen.

Gut dokumentiert sind die fast als regelmäßig zu bezeichneten Besuche des Gartenlaubkäfers *Phyllopertha horticola* (Abb. 15c) und der Schwebfliege *Microdon* (ENGEL 1985). Beide entnehmen bei ihren etwas unorientierten Kopulationsversuchen oft eher zufällig die Pollinarien. Dennoch dürften sie gelegentlich zu Bestäubungen beitragen. Dies gilt sicher nicht für Insektenarten, die deutlich zu klein sind. So konnte ich mehrfach eine Art der Gattung *Aprosthema* (Argidae) bei der Pseudokopulation auf *O. holoserica* bei Freiburg beobachten. Das ist in so fern interessant, als zwei Arten der nächst verwandten Gattung *Sterictophora* Bestäuber auf der nordspanischen *Ophrys subinsectifera* sind, einer nahen verwandten unserer Fliegenragwurz (*O. insectifera*) (HERMOSILLA et al. 1999).

3.2. Andere Methoden der Bestäuberanlockung in der Gattung *Ophrys*

3.2.1. Territorialität und Pseudoaggression bei Ophrys regis-ferdinandii

Möglicherweise ist in der östlichen Ägäis die Schwebfliege *Merodon velox* Bestäuber von *O. regis-ferdinandii*. Diese aus der Verwandtschaft von *Ophrys speculum* stammende schlankblütige Art findet sich nicht selten in Rhodos, sie blüht etwas nach der Spiegelragwurz. Trotz vieler Versuche einen Bestäuber bei einem Blütenbesuch zu beobachten, ist dies mir bislang nicht gelungen. Es ist uns aber schon früh aufgefallen, dass es zur Blühzeit eine bunte Schwebfliege gibt, deren Männchen (und nur diese) blau schillernde Flügel und eine rot-beige Abdomenspitze aufweisen. Diese Farbkombination ist der von *O. regis-ferdinandii* so verblüffend ähnlich, dass ich hier einen Zusammenhang vermute (Abb. 16). Dann allerdings besteht die Mimikry in einer Männchen-Imitation, um aggressives Verhalten im Zuge der Territorialität dieser Männchen auszulösen (PAULUS & GACK 1990c). Die Blüte sieht nämlich nur den auffällig gefärbten Männchen dieser Syrphidae ähnlich

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

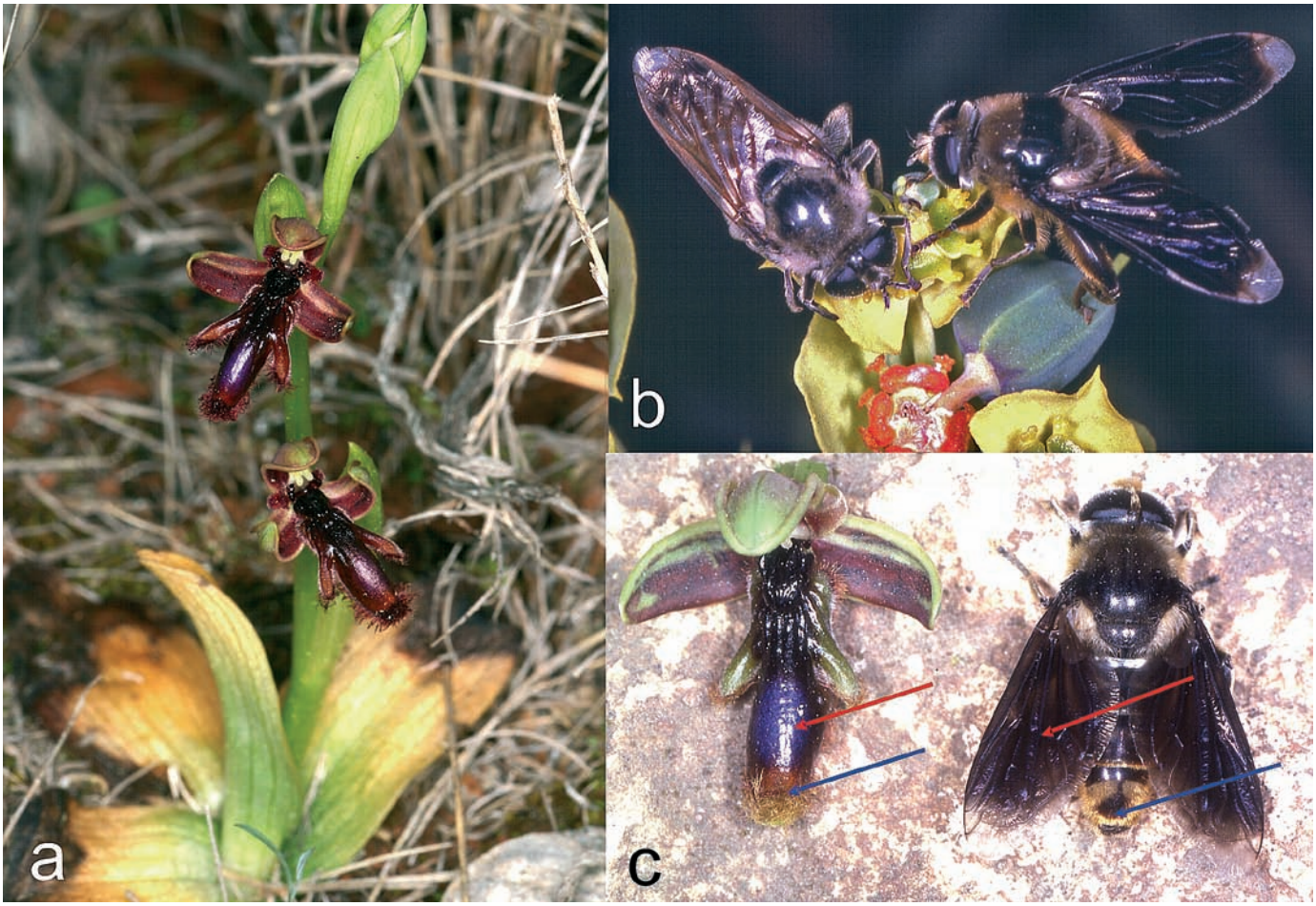

Abb. 16: *Ophrys regis-ferdinandii* ist eine Verwandte der Spiegelragwurz *Ophrys speculum*. Über die Bestäubung sind wir nur unvollständig unterrichtet. Doch im Verbreitungsgebiet gibt es die den Blüten sehr ähnliche Schwebfliege *Merodon velox* LOEW. Allerdings sehen den *Ophrys*-Blüten nur die Männchen ähnlich, während die Weibchen die blau schillernden Flügel nicht haben. Wenn an der Ähnlichkeit etwas dran ist, dann werden die Männchen und nicht die Weibchen imitiert. Demnach könnte die Anlockung der *Ophrys*-Blüte darin bestehen, den Schwebfliegen-Männchen andere Männchen vorzutäuschen, um damit territoriale Aggression auszulösen.

und nicht deren schlicht gefärbten Weibchen. Nur einmal habe ich ein Männchen gesehen, dass tatsächlich eine Art Attacke auf die *Ophrys*-Blüte gemacht hat. In Chios postierte ich eine Pflanze in die Flugbahn eines Männchens. Leider tauchte dieses lange Zeit nicht mehr auf, so dass ich mich anderen Dingen widmete. Als ich jedoch zurückkehrte, fehlten der Blüte ihre Pollinarien. Tatsächlich klebten diese bei dem dann doch wieder auftauchenden Männchen am Kopf. Leider ist das alles, was ich bislang an Beobachtungen vorlegen kann.

3.2.2. Schlafplatzmimikry durch Ophrys helenae

Die völlig zeichnungslose griechische *Ophrys helenae* betreibt Imitation eines Schlafloches, in das einige nah verwandte Langhornbienenarten (vor allem *Eucera* (*Synhalonia*) *lucasi* und *berlandi*) abends versuchen hineinzukriechen, um darin zu übernachten (mimikry of sleeping holes). Welche Signale hier reizwirksam sind, ist bislang nicht näher untersucht. Die Hypothese ist, dass neben den optischen Signalen „schwarzes Loch" Männchen-Aggregationspheromone eine Rolle spielen (PAULUS & GACK 1993). Wir haben damals in Mittelgriechenland nahe der Westflanke des Olymp eine ganze Reihe Blütenbesuche gesehen. Während am Tage sich keines der Langhornbienenmännchen für die zahlreich dort wachsenden *Ophrys helenae*-Blüten interessierte, begann in der frühen Dämmerung die gewohnte Suche nach Schlafplätzen. Einige Männchen setzen sich in Anemonen- oder *Ranunculus*-Blüten und ließen sich von den Kronblättern einschließen. Andere krochen in alle möglichen kleinen Löcher am Boden. Vielfach kamen sie nach kurzer Zeit wieder heraus, um nach anderen Schlafgelegenheiten zu suchen. Vielfach finden sich hierbei Männchen zu Schlafgesellschaften zusammen, so dass eine olfaktorische Orientierung vorhanden sein sollte. Ich habe oft solche Schlafgesellschaften gefunden, die aus bis zu 40 Männchen bestehen können. Offenbar hat sich hier *Ophrys helenae* mit ihrem Blütenaussehen und vermutlich einem Duftbouquet „eingeklingt". Tatsächlich konnten wir einige *Tetralonia luca-*

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

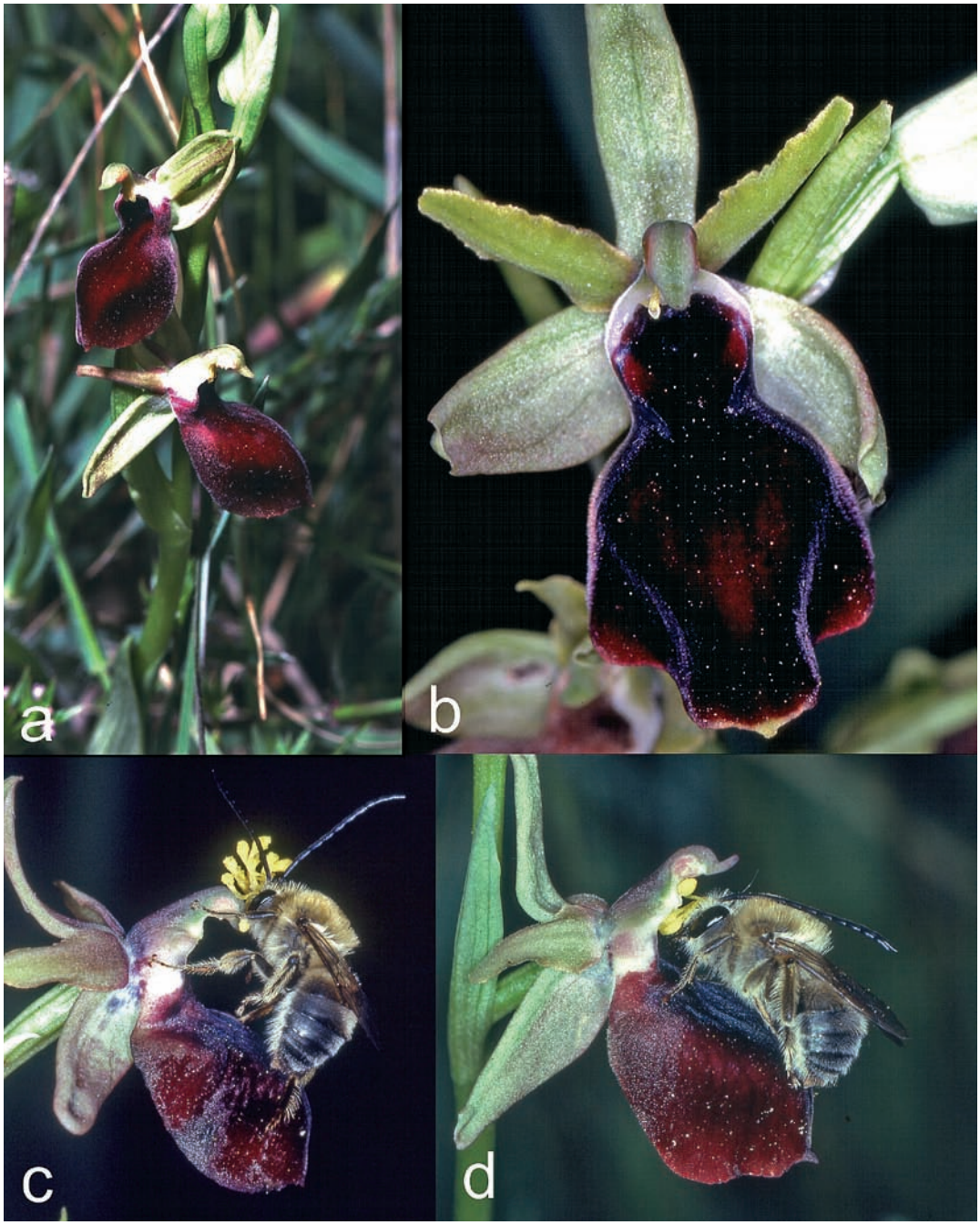

Abb. 17: *Ophrys helenae* ist eine Art der *O. sphegodes*-Gruppe, die vor allem in Mittelgriechenland verbreitet ist. Sie fällt dadurch auf, dass sie die einzige *Ophrys*-Art ohne Malzeichnung ist. Aufgrund unserer Untersuchungen handelt es sich um eine völlig andere Methode der Bestäuberanlockung. Die Blüten bieten in der Dammerung schwarze Pseudo-Schlaflöcher (**a, b**) (PAULUS & GACK 1993), in die Langhornbienenmännchen von *Tetralonia lucasi* (**c**) und *T. berlandi* tatsächlich versuchen hineinzukriechen. Da dies natürlich nicht gelingt, stoßen sie bei jedem Besuch einer neuen Blüte immer wieder an die Klebscheiben der Pollinarien und entnehmen sie (**c**). Dabei kommt es nur in dieser kurzen Dämmerungsphase zu Bestäubungen. Wenn es schließlich zu dunkel geworden ist, bleiben die Männchen einfach auf der Blüte sitzen, um nun tatsächlich zu übernachten (**d**). Fotos: Mittelgriechenland nahe Elasson, Ende April 1986.

si-Männchen dabei beobachten, wie sie immer wieder auf dem Labellum landeten, Bewegungen in Richtung Narbe machten und dabei die Pollinarien entnahmen. Sie zeigten auf keinen Fall Pseudokopulationsverhalten, sondern waren ganz offenkundig dabei, in die Blüte hineinzukriechen zu versuchen. Da dies nicht ging, flogen sie rasch ab, um gleich bei einer benachbarten Blüte ihr Glück zu versuchen. Dabei haben etliche Männchen viele Pollinarien „gesammelt" (Abb. 17). Meist wurde es schnell zu dunkel, um weiter zu fliegen. Dann blieben die Männchen einfach auf der Blüte oben sitzen und verbrachten die Nacht dort schlafend. Andere krochen dazu auf die Unterseite des Labellums. Bei Zählungen in den Morgenstunden stellte sich in der Summe heraus, dass oft mehrere Männchen zusammen schliefen. Die häufigsten Arten waren hier *Tetralonia lucasi* und *T. berlandi*, seltener auch die kleinen *Eucera*. Die übrigen Langhornbienenarten des Gebietes (ca. 5 weitere Arten) betätigten sich niemals als Schläfer. Auf den im Gebiet ebenfalls häufig wachsenden *Ophrys mammosa*-Blüten fanden sich niemals Schläfer.

Die Beobachtungen und Befunde sprechen ganz klar für die Imitation eines Schlafloches. Die am Tage dunkel-weinrot erscheinenden Blüten sind in der Dämmerung schwarz (Abb. 17); am Tage werden sie von den genannten Langhornbienen nicht beachtet. Die Beobachtung von MOLNÁR (1998), der ein Männchen von

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Tab. 2: Verzeichnis der Arten der *Ophrys fusca*-Gruppe und ihrer bislang bekannten Bestäuber. In der Bestäuber-Liste sind die Arten der Gattung *Andrena* unter dem Untergattungsnamen aufgeführt. Andere Bestäuber-Taxa sind kursiv.

***Ophrys*-Art**	**Bestäuber**	**Verbreitung**
1. weit verbreitete Arten		
lupercalis Devilliers & Devilliers-Terschuren	*Melandrena nigroaenea*	westl. und zentrales Mittelmeergebiet bis Griechenland
2. ostmediterrane Arten		
astypalaeica Delforge	?	Insel Astypalea
attaviria Rückbrodt & Wenker	*Holandrena labialis*	östl. Ägäis, Rhodos etc.
blitopertha Paulus& Gack	*Blitopertha lineolata* (Coleoptera, Scarabaeidae)	Lesbos, Samos, Chios, Rhodos, Kos, Naxos, SW-Türkei
calocaerina Devilliers-Terschuren & Devilliers	*Holandrena labialis*	W- + S-Griechenland
cesmeensis (Kreutz) Delforge	?	W-Türkei
cinereophila Paulus & Gack	*Chlorandrena cinereophila*	Ägäis, Zypern, SW- Kleinasien, SO-Griechenland
creberrima Paulus	*Zonandrena creberrima*	Kreta
cressa Paulus	*Chrysandrena merula*	O-Kreta
creticola Paulus	? (*Andrena bimaculata*)	Kreta
eptapigiensis Paulus	?	Rhodos
iricolor Desfontaines	*Melandrena morio*	O-Mittelmeerraum
israelitica Baumann & Künkele	*Zonandrena flavipes*	Naxos, Andros, Naher Osten (Zypern, Israel)
kedra Paulus	*Holandrena variabilis*	W-Kreta
leucadica Renz	*Zonandrena flavipes*	östl. Mittelmeergebiet
lindia Paulus	*Truncandrena truncatilabris*	W-Türkei, Rhodos, Karpathos (?)
mesaritica Paulus & Alibertis	*Melandrena nigroaenea*	S-Kreta, Kythera, Levkas, Kephallonia, Korfu
pallidula Paulus	*Simandrena combinata*	O-Kreta
parosica Delforge	?	Paros, Chios
parvula Paulus	*Fumandrena tomora*	S-Rhodos
perpusilla Devilliers-Terschuren & Devilliers	?	Ionische Inseln, W-Griechenland
persephonae Paulus	?	Rhodos
phaidra Paulus	?	Kreta
phaseliana Rückbrodt	?	S-Türkei
sitiaca Paulus& Alibertis	*Melandrena nigroaenea*	südl., östl. Ägäis, W-Anatolien, Zypern
triphtiensis Paulus	*Euandrena bicolor*	O-Kreta
urteae Paulus	*Blitopertha majuscula* (Coleoptera, Scarabaeidae)	S-Türkei
3. Zentral- und westmediterrane Arten		
archimedea Delforge & Walravens	?	Sizilien
arnoldii Delforge	*Melandrena nigroaenea* (2. Generation)	N-Spanien, Balearen, S-Frankreich
atlantica Munby	*Chalicodoma parietina* (Megachilidae)	S-Spanien, Marocco, W-Algerien
bilunulata Risso (sensu Delforge)	*Zonandrena flavipes*	Westl.-Mittelmeergebiet
caesiella Delforge (= *africana*, *gazella*)	*Zonandrena flavipes*	S-Sizilien, Malta
Colletes-*fusca* (*andalusiaca* n.sp.)	*Colletes cunicularius* (Colletidae)	S-Spanien, NW-Afrika
flammeola Delforge (=*florentina-fusca*?)	?*Hyperandrena florentina*, *Melandrena thoracica*	Sizilien
forestieri (Reichenb.) Lojacono	?	SW-Frankreich
funerea Viviani (= *zonata*, *marmorata*?)	*Zonandrena flavipes*	Sardinien, Korsika
fusca Link	*Colletes*?	Bislang sicher nur aus dem Großraum Lissabon und Serra Arrabida bekannt
gackiae Delforge	*Hoplandrena sabulosa*	Sizilien
hespera Devilliers & Devilliers-Terschuren	?*Taeniandrena ovatula*	Z-Italien
iricolor ssp. *iricolor* *iricolor* ssp. *maxima* (= *eleonorae*)	*Melandrena morio* *Melandrena morio* *Melandrena nigroaenea*	O-Mittelmeerraum Sardinien, Malta, Tunesien
laurensis Geniez & Melki	*Ulandrena schulzi*	O-Sizilien
lojaconoi Delforge	*Taeniandrena similis* (= *ocreata*)	Mte. Gargano (Apulien)
lucana Delforge & Devilliers-Terschuren & Devilliers	*Holandrena labialis* (?)	M- + S-Italien
lucentina Delforge	*Euandrena vulpecula*	O-Spanien

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

***Ophrys*-Art**	**Bestäuber**	**Verbreitung**
lucifera DEVILLIERS-TERSCHUREN & DEVILLIERS	?	S-Italien, Sizilien
mirabilis GENIEZ & MELKI (*joannae* ssp. *mirabilis*?)	?	S-Sizilien
obaesa LOJACONO	*Zonandrena flavipes*	Sizilien
ortuabis GRASSO & MANCA	*Thysandrena hypopolia*	SO-Sardinien
pallida RAFINESQUE (=*pectus* MUTEL)	*Rufandrena orbitalis*	N-Sizilien, NO-Algerien
peraiolae FOELSCHE	*Taeniandrena wilkella* (?)	S-Korsika
sabulosa PAULUS & GACK ex DELFORGE	? (nicht *A. sabulosa*!)	Sizilien
sulcata DEVILLIERS-Terschuren & DEVILLIERS	*Taeniandrena wilkella*	S-Frankreich, N-Italien, Istrien
vasconica (DANESCH) DELFORGE	?	SW-Frankreich
4. Arten aus N-Afrika		
akhdarensis (BAUMANN) DELFORGE	?	Cyrenaica
atlantica MUNBY	*Chalicodoma parietina* (Megachilidae)	S-Spanien, Marokko, W-Algerien
battandieri CAMUS	*Ptilandrena vetula*	Tunesien, O-Algerien
gazella DEVILLIERS-TERSCHUREN & DEVILLIERS (= *africana*, = *caesiella*)	*Zonandrena flavipes*	N-Tunesien
iricolor ssp. *iricolor* *iricolor* ssp. *maxima* (= *eleonorae*)	*Melandrena morio* *Melandrena morio*, *Melandrena nigroaenea*	O-Mittelmeerraum
Sardinien, Malta, Tunesien		
joannae ssp. *hayeckii* FLEISCHMANN & SOO	?	N-Tunesien
joannae ssp. *joannae*	?	O-Algerien
migoutiana GAY	*Poliandrena melaleuca*	N-Tunesien, O-Algerien
murbeckii FLEISCHMANN (= *aspea*)	*Colletes formosanus*, *C. oratuabis* (Colletidae)	Tunesien
numida DEVILLIERS-TERSCHUREN & DEVILLIERS	*Euandrena vulpecula* (?)	N-Tunesien, Sizilien, S-Italien (?)
vallesiana DEVILLIERS-TERSCHUREN & DEVILLIERS	?	N-Tunesien

Tetralonia berlandi auf einer *O. helenae*-Blüte gesehen hat und meinte, dieses würde pseudokopulieren, halte ich daher eindeutig für falsch interpretiert.

Während *Serapias*-Arten echte Schlaflöcher anbieten und damit letztlich belohnen, imitiert *Ophrys helenae* ein solches und legt ihre Bestäuber herein.

3.2.3. Bestäuberspezifität und Systematik der Gattung Ophrys

Da die Bestäuberanlockung im Wesentlichen artspezifisch ist, führt dies zur Pollenübertragung nur innerhalb dieser spezifischen Typen. Demnach sind diese per Definition als Arten zu betrachten, da die Bestäuber als Präpollinations-Isolationsmechanismus fungieren. Dies wurde in zahlreichen Auswahltests in vielen Regionen des Mittelmeergebietes getestet und stets bestätigt (PAULUS & GACK 1990a-d, 1995). Die Konsequenz daraus, war dass mit dieser Methode Populationen und blütenmorphologische Typen geprüft werden konnten, ob sie Arten sind oder nicht. Das Ergebnis war, dass die Gattung *Ophrys* mit ihren früher 25-30 Arten (NELSON 1962, SUNDERMANN 1980, BAUMANN & KÜNKELE 1988, BUTTLER 1986) jetzt bei über 260 Arten (DELFORGE 2005) liegt, da dabei eine Vielzahl außerordentlich ähnlicher Arten besser erkannt und besser abgetrennt werden konnten. Ein Ende ist noch nicht abzusehen, da viele Gebiete (vor allem im östlichen Mittelmeerraum) noch immer zu wenig genau untersucht worden sind.

Ein besonders dramatisches Beispiel sind die vielen neu erkannten Arten der *Ophrys fusca*-Gruppe. *Ophrys fusca* wurde zwar oft als vielgestaltige Art registriert, aber dennoch stets als nur eine einzige Art betrachtet. Die von Paulus eingeleiteten Bestäuberuntersuchungen im Zusammenhang mit der Systematik der Gruppe hat ergeben, dass *O. fusca* in Wirklichkeit in ca. 60 Arten zerfällt. Ein Ende ist noch nicht abzusehen, da viele Gebiete (vor allem im östlichen Mittelmeerraum) noch immer zu wenig genau untersucht worden sind. Eine Liste der bislang bekannten Arten dieser Gruppe ist in Tab. 2 zusammengestellt.

Diese Arten sind zum Teil sehr nahe verwandt und daher sehr ähnlich. Auf Grund vieler biologischer Details, wie eigene Bestäuber, eigene Verbreitungsareale, abgesetzte Blühzeiten und natürlich eigenständiger Blütenmorphologie handelt es sich aber stets um gut begründete biologische Arten. In vielen Fällen wurde im gesamten Areal der betreffenden Arten die Bestäuberspezifität überprüft. Die Erwartung ist natürlich, dass eine bestimmte *Ophrys*-Art in ihrem gesamten Areal immer dieselbe Bienenart anlockt. Gelegentlich finden sich aber auch Abweichungen in der Blütenmorphologie in getrennten Arealen (also in der Allopatrie) und dennoch

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Tab. 3: Liste der bekannten Bestäuber der Gattung *Anthophora* bei zwei *Ophrys*-Artengruppen.

Bestäuber	*Ophrys*-Art mit Bestäubung per Kopf	Abdomen	Bestäubernachweis
	argolica-Gruppe		
Anthophora erschowi		*elegans*	Zypern
Anthophora orientalis		*aegaea*	Karpathos
Anthophora cf. *mucida*		*lucis*	Rhodos
Anthophora plagiata		*argolica*	S-Griechenland
Anthophora plagiata		*delphinensis*	S-Griechenland
Anthophora retusa		*biscutella*	S-Italien
Anthophora sicheli		*morisii*	Sardo-Korsika
Anthophora plumipes		*crabronifera*	W-Italien
Anthophora atriceps		*provincialis*	SO-France
	omegaifera-Gruppe		
Anthophora dalmatica[4]		*omegaifera*	Kreta, Rhodos, Karpathos, Naxos
Anthophora nigriceps		*omegaifera* früh	Samos, Chios, Rhodos
Anthophora nigrocincta		*basilissa*	Kreta, Kos, Rhodos
Anthophora sicheli		*fleischmannii*	Kreta
Anthophora atroalba		*dyris*	S-Spanien
Anthophora balearica[5]		*dyris* (f. „*balearica*")[6]	Mallorca

Tab. 4: Seidenbienen (*Colletes*) als Bestäuber in der Gattung *Ophrys.*

Bestäuber	*Ophrys*-Art mit Bestäubung per Kopf	Abdomen	Bestäubernachweis
Colletes cunicularius	*arachnitiformis*		S-Frankreich
Colletes cunicularius	*tyrrhena*		NW-Italien
Colletes cunicularius	*archipelagi*		S-Italien
Colletes cunicularius	*exaltata*		Sizilien
Colletes cunicularius	*cephalonica*		Korfu
Colletes albomaculatus	*gortynia*		Kreta
Colletes albomaculatus		*algarvensis*	S-Spanien
Colletes cunicularius		*Colletes-fusca*	S-Spanien
Colletes formosanus		*murbeckii* (*aspea*)	N-Tunesien

[4] Früher als *A. atroalba* ssp. *agamoides* bezeichnet. [5] Vielleicht auch nur eine ssp. von *A. atroalba*. [6] Nahe mit *O. dyris* aus Andalusien verwandt und in der Regel als artgleich betrachtet.

haben diese Formen denselben Bestäuber. Hier liegen entweder Konvergenzen vor oder die Teilpopulationen sind wie im Fall von *Ophrys speculum* geographische Rassen. Ein Beispiel stellt die *Ophrys bilunulata-leucadica*-Artengruppe dar, die alle von *Andrena flavipes* bestäubt werden. Hier ist die Grenze zwischen Arten und Rassen kaum noch zu fassen (Abb. 18). Wir haben begonnen, diese Arten mit Hilfe molekular-genetischer Marker zu untersuchen, um neue Zugänge zu diesen interessanten Fragen zu erhalten (SCHLÜTER et al. 2007a-f). Für die *Ophrys omegaifera*-Gruppe habe ich eine Grafik solcher Analysen dargestellt. Hier wurden die molekularen Daten über eine multivariate Statistik daraufhin geprüft, ob die die jeweils artidentischen Individuen aus verschiedenen Regionen zusammen klustern. Wie die Abb. 19 zeigt, ist dies hier sehr gut der Fall. Hier wurde sogar bestätigt, dass es in Rhodos bis Samos und Chios eine noch unbeschriebene früh blühende *Ophrys omegaifera-basilissa*-Verwandte gibt, die *Anthophora nigriceps* als Bestäuber hat.

Aus diesen Resultaten folgt auch, dass Artbildungsprozesse in der Gattung *Ophrys* stets mit dem Erschließen eines neuen Bestäubers einhergegangen ist, der in der weiteren Folge sich „seine" Blüten in Richtung seiner Weibchen-Erwartung gezüchtet hat. Dies wiederum führte zu blütenmorphologischen Differenzen, an denen im Gelände auch ohne Kenntnis des Bestäubers aufgrund von Morphospezies-Kriterien auf Artstatus geschlossen werden kann. Um in der Beurteilung sicher zu gehen, kann mit Hilfe eines Bestäubertest als quasi Biotest die Hypothese eines Artstatus sehr gut überprüft werden. Hintergrund dieser Testmöglichkeit ist, dass unterschiedliche Bestäuber ihre Blüten nicht nur morphologisch, sondern vor allem in ihrer Duftausstattung selektiert haben.

Die hier nachvollziehbaren Artbildungsprozesse können in zwei Richtungen interpretiert werden. Zum einen erfolgte adaptive Radiation in Artengruppen so, dass man stets verwandte Bestäubergruppen erschlossen

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

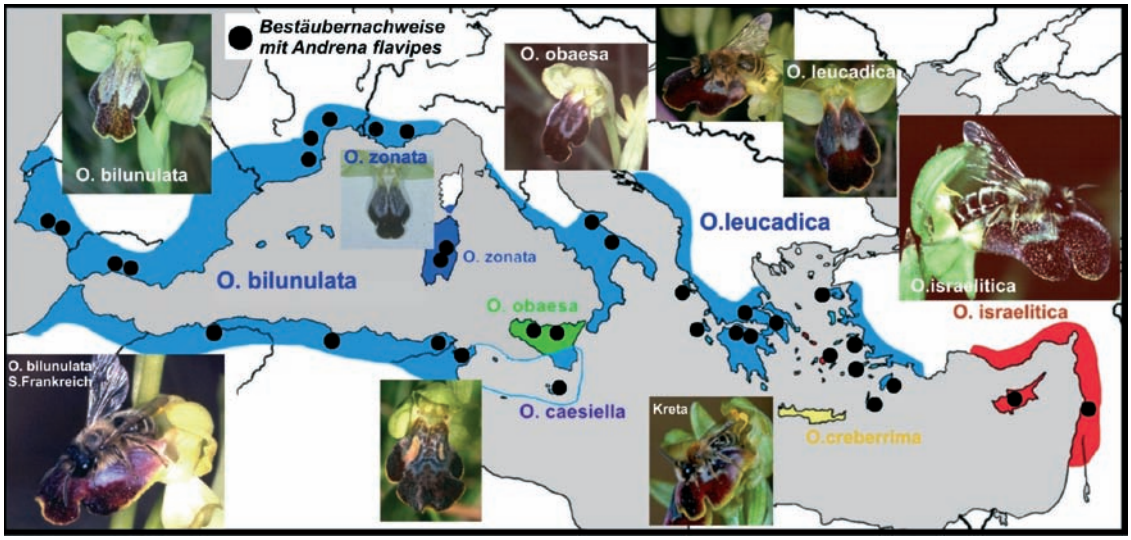

Abb. 18: *Andrena flavipes* ist eine im Frühjahr überall häufige Biene. Sie hat daher im gesamten Mittelmeergebiet offenbar mehrfach unabhängig sich *Ophrys*-Arten aus der *O. fusca*-Gruppe als Bestäuber erschlossen. Je nach morphologischer Divergenz der Blüten werden diese als verschiedene Arten bezeichnet. Dargestellt sind die Areale der Arten und die Orte (schwarze Punkte) mit von uns beobachteten Pseudokopulationen.

hat. Dies dürfte eine Folge davon sein, dass verwandte Bienengruppen auch ähnlichere Duftausstattungen besitzen, so dass ein Bestäuberwechsel leichter denkbar ist. Auf diesem Weg entstanden *Ophrys*-Artengruppen, die alle von nah verwandten Arten der Großgattungen wie *Andrena* oder *Eucera* bestäubt werden. Beim Erschließen einer neuen Bestäuber-Gattung erfolgte wiederum eine *Ophrys*-Artenaufteilung in Adaptation auf nur Arten dieser Gattung. So werden alle Arten der *O. argolica*-Gruppe per Kopfpollination und die der *O. omegaifera*-Gruppe per Abdomenpollination nur von *Anthophora*-Arten bestäubt (Tab. **3**). Weitere Gruppen-Spezifitäten sind in Tabelle 4 genannt.

Es gibt allerdings auch einige Belege für bemerkenswerte Bestäuberwechsel im Zuge von Artbildungen. Die artenreiche *Ophrys fusca*-Gruppe wird fast ausschließlich von verschiedenen *Andrena*-Arten bestäubt. Eine noch unbeschriebene Art in Südspanien wird jedoch von *Colletes cunicularius* (PAULUS & GACK 1981), *Ophrys atlantica* in Südspanien von *Chalicodoma parietina* (Apoidea, Magachilidae) (PAULUS & GACK 1983) bestäubt; in der östlichen Ägäis und S.Türkei sind sogar zwei Arten zu Käfern der Familie Scarabaeidae gewechselt: *Ophrys blitopertha* mit *Blitopertha lineolata* (PAULUS & GACK 1990a, PAULUS 1998) und *Ophrys urteae* mit *Blitopertha majuscula* (PAULUS, unveröffentl.) als Bestäuber. Noch interessanter ist der Bestäuberwechsel in der *Ophrys insectifera* Gruppe. Die zentraleuropäische Fliegenragwurz wird von *Argogorytes mystaceus* (Specidae) bestäubt (WOLF 1950, KULLENBERG 1961). Die nächstverwandte südfranzösische *Ophrys aymoninii* hat *Andrena combinata* (PAULUS & GACK 1990a) als Bestäuber. Die erst kürzlich bekannt gewordene *Ophrys subinsectifera* aus Nordspanien aus dieser Verwandtschaft besitzt sogar *Sterictophila gastrica* und *S. furcata* aus der Pflanzenwespenfamilie Argidae als Bestäuber (HERMOSILLA et al. 1999). In keinem Fall sind wir über die relevanten Duftbouquets unterrichtet, um einschätzen zu können, wie von einer Grabwespe auf eine Biene oder Pflanzenwespe oder gar von einer *Andrena* auf Käfer umgestiegen werden konnte.

4. Üben Bestäuber Selektion auf *Ophrys*-Blüten aus?

4.1. Indirekte Schlüsse aus vergleichenden Betrachtungen

Wie die exakten Passungen zwischen Duftbouquets der Blüten mit denen ihrer Bestäuberweibchen nahelegen, ist die beste Erklärung die, dass sie das Resultat einer Selektion durch die Männchen sind. Sie verhelfen solchen Blüten zu höherem Fortpflanzungserfolg, die ihrer Weibchenerwartung am nächsten kommen. Nicht oder weniger passende Blüten-Duftbouquets werden nicht oder weniger bestäubt. Wie aus vergleichenden Untersuchungen von Blüten-Duftbouquets sich ergeben hat, operieren allopatrisch verbreitete *Ophrys*-Arten mit identischem Bestäuber mit identischen Duftbouquets. Bislang wurden Arten aus der *O. fusca*- und der *O. sphegodes*-Gruppe untersucht (STÖKL et al. 2005). Dies sollte sich natürlich auch auf die optischen Signale beziehen. Hier haben wir einen besseren Zugang, da wir direkte Vergleiche anstellen können. Die Erwartung ist, dass wiederum *Ophrys*-Arten mit identischem Bestäuber ähnliche oder identische optische Signale haben sollten. Das ist tatsächlich der Fall. Gute Beispiele hierfür sind *O. bertolonii* (Italien), *O. ferrum-equinum* (Griechenland) und *O. atlantica* (Südspanien/Nordafrika). Sie alle werden von der Mörtelbiene *Chalicodoma parietina* (Megachilidae) bestäubt. Da alle drei Arten innerhalb der Gattung *Ophrys* nicht näher verwandt sind, muss es sich um Konvergenz der optischen Signale handeln (Abb. 20). Wenn solche Fälle von Konvergenz innerhalb einer nahen Verwandtschaft auftreten und wir

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

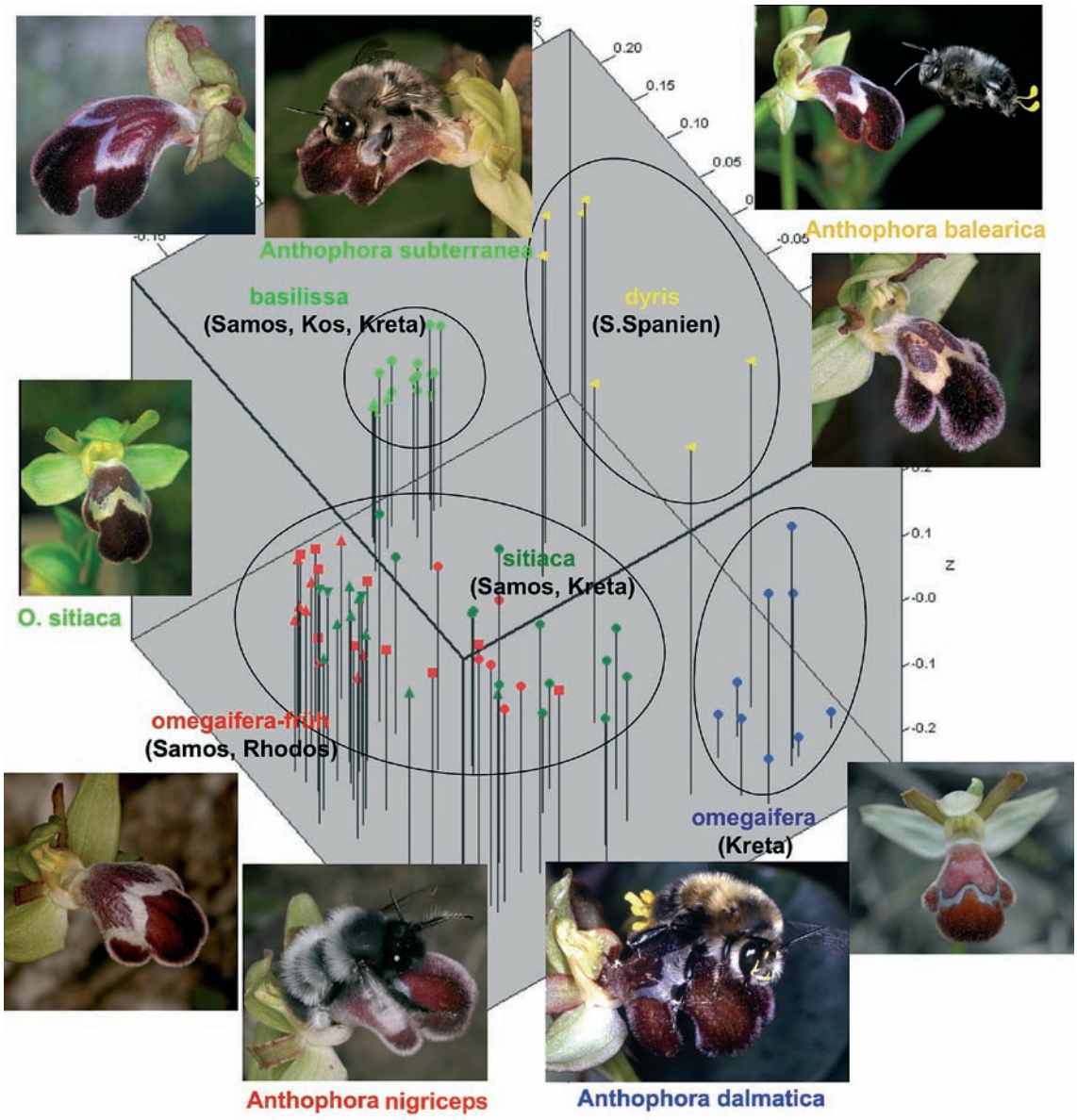

Abb. 19: Multivariate Merkmalsanalysen (principle coordinate analyses) aus DNA-Daten in der *Ophrys omegaifera*-Gruppe (verändert und mit Fotos ergänzt nach SCHLÜTER et al. 2007). Die molekularen Analysen (AFLPs) zeigten, dass alle Taxa gut getrennte genetische Einheiten sind. Art gleiche Taxa klustern gut zusammen, was ihre Zusammengehörigkeit belegt (siehe z. B. *O. basilissa* aus Kreta, Kos und Samos). Früh blühende *O. omegaifera*-Proben aus Rhodos und Samos klustern zusammen und sind aber getrennt von denen aus Kreta. Dies belegt die bereits über Bestäuberuntersuchungen prognostizierte Annahme, dass es sich um verschiedene Arten handelt. *Ophrys sitiaca* gilt schon lange als paläo-hybridogene Art und lässt sich tatsächlich von *O. omegaifera* als mutmaßliche eine Elternart nicht trennen.

Evidenzen für ein konvergentes Entstehen der optischen Signale haben, dann sprechen wir von Paralellismus. Solche Fälle scheinen die Artenpaare *Ophrys apulica* (Süditalien), *O. heldreichii* (Südgriechenland) und *O. episcopalis* (Südägäis) oder *O. kotschyi* (Zypern), *O. cretica* (Kreta, Rhodos) zu sein (PAULUS & GACK 1986, PAULUS 1988b). Wir kommen aber hier in Bereiche der evolutionären Systematik, in denen wir nicht mehr sicher zwischen Verwandtschaft oder Konvergenzen unterscheiden können. Hier helfen dann nur Methoden der molekularen Systematik, die aber bislang in der Gattung *Ophrys* auf dem Artniveau noch wenig brauchbare Resultate erbracht haben (BATEMAN et al. 1997, PRIDGEON et al. 1997, ACETO et al. 1999, SOLIVA et al. 2001). Mit Hilfe von DNA-Fingerprinting-Methoden (ALFP) sind wir gerade dabei, die schwierigen Arten innerhalb der *O. fusca*-Gruppe zu bearbeiten (SCHLÜTER et al. 2005a, b, 2007a-f).

4.2. Direkte Schlüsse aus Experimenten zum Bestäubungserfolg

4.2.1. Wuchshöhe und Männchen-Flughöhe

Um aufzuzeigen, dass Bestäuber Selektion auf die Blüten ausüben, muss gezeigt werden, dass Männchen zwischen Blüten so wählen, dass dadurch der Fortpflanzungserfolg beeinflusst wird. Dies setzt voraus, dass Blüten innerhalb von Populationen variabel sind und die Männchen darauf mit unterschiedlichen Anflughäufigkeiten reagieren (PAULUS 1988b). Eine Reihe von Freilandexperimenten wurde dazu durchgeführt. PAULUS & GACK (1980) konnten zeigen, dass bei *Ophrys speculum* die Blühhöhe offenbar nicht gleichgültig ist. Blüten in 5 cm, 10 cm und 15 cm über dem Boden wurden den fliegenden Bestäubermännchen präsentiert und über einen Zeitraum von 150 min in 30 min Intervallen die Anflugraten registriert (Abb. 21).

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

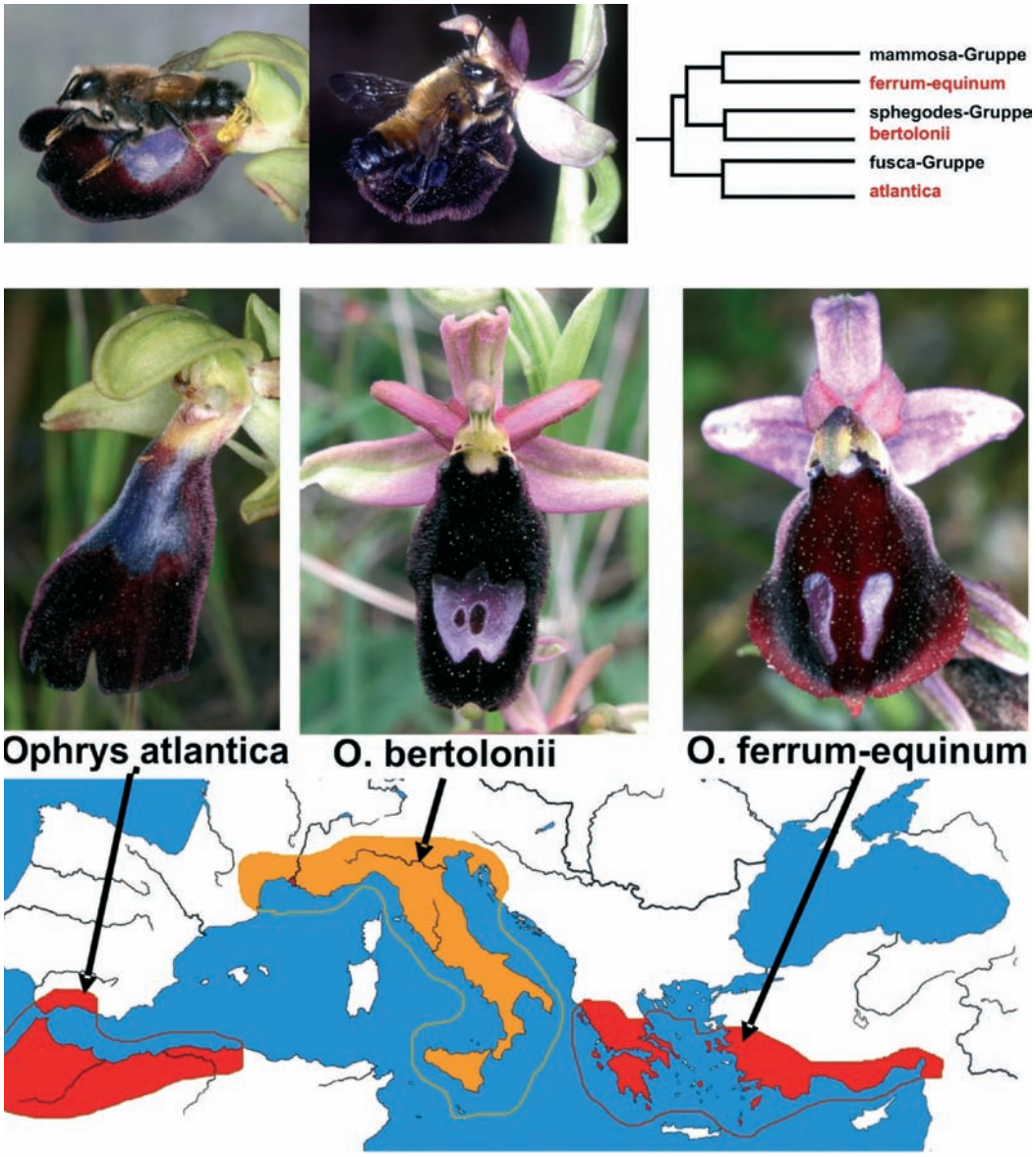

Abb. 20: Beispiele für konvergente Blütenevolution in der Gattung *Ophrys* auf Grund identischer Bestäuberselektion. Die drei innerhalb der Gattung *Ophrys* nicht näher verwandten Arten *O. atlantica* (*O. fusca*-Gruppe), *O. bertolonii* (*O. sphegodes*-Gruppe) und *O. ferrum-equinum* (*O. mammosa*-Gruppe) haben konvergent diesselbe Bestäuberbiene *Chalicodoma parietina* (Megachilidae) erworben (oben). Als Konsequenz zeigen sie einige auffällige optische Ähnlichkeiten wie dunkle Lippe, leuchtend-glänzend blaues Mal. Es ist zu erwarten, dass sie auch identische Duftausstattungen haben.

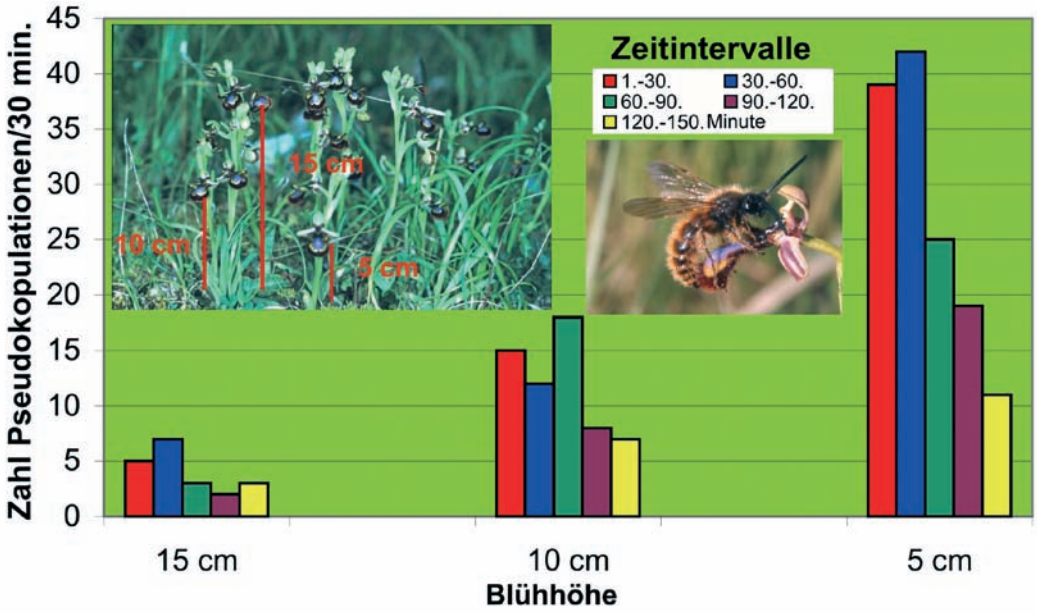

Abb. 21: Bei *Ophrys speculum* üben die Männchen der Dolchwespe *Dasyscolia ciliata* Selektion auf möglichst niedrige Blühhöhe aus. Bei im Experiment in 3 verschiedenen Blühhöhen (5 cm, 10 cm und 15 cm) fliegenden Männchen gebotenen Pflanzen wurden die Anflugraten (Zahl Pseudokopulationen) als Summen in 30 Minuten-Intervallen gezählt. Die Blüten in 5 cm Höhe waren deutlich attraktiver als solche in 15 cm Höhe (verändert nach Paulus & Gack 1980).

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

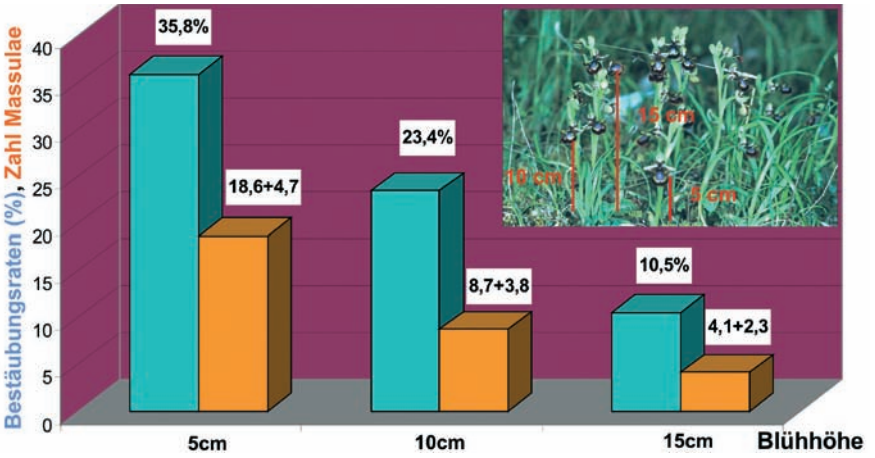

Abb. 22: Blüten in niedriger Blühhöhe sollten auf Grund der höheren Anflugraten (siehe Abb. 21) mehr Bestäubungen und damit höheren Samenansatz haben. Bei zahlreichen Blüten wurde daher in Abhängigkeit von den Blühhöhen (5 cm, 10 cm und 15 cm) die Bestäubungsrate (als verdickte Samenstände) und/oder die Zahl Massulae (Pollenpakete aus einem Pollinarium) in der Narbe gezählt. Beides sind Maßstäbe für häufigen oder weniger häufigen Blütenbesuch. Tatsächlich waren die Blüten in 5 cm häufiger befruchtet (blaue Balken) und/oder hatten mehr Massulae (gelbe Balken) als solche in 15 cm Blühhöhe. Untersuchungen in Mallorca und Tunesien, n = 283 Blüten.

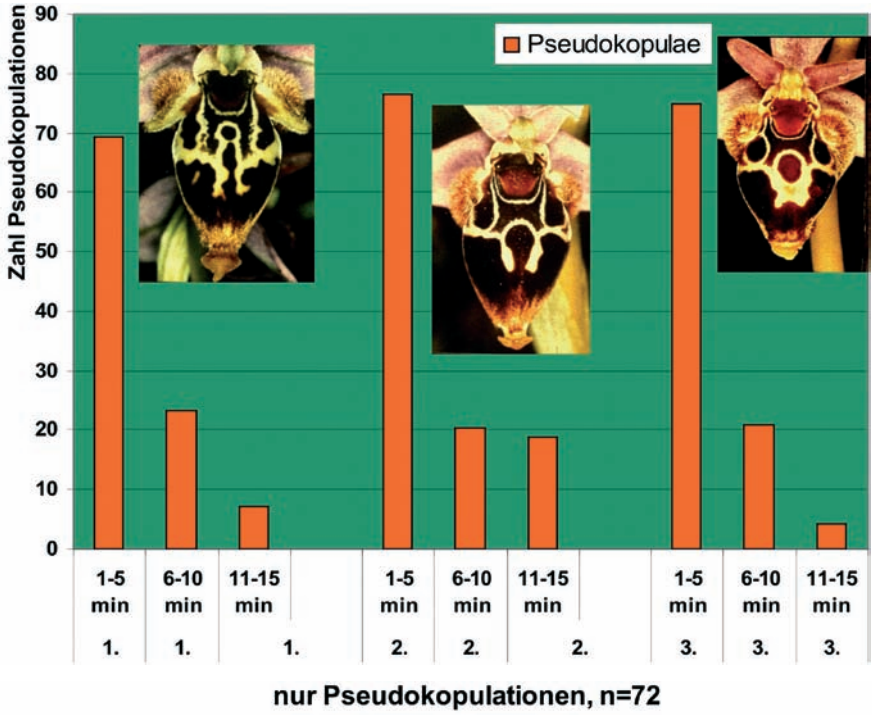

Abb. 23: Lernexperimente in Kreta mit *Eucera berlandi*-Männchen und *Ophrys heldreichii:* Bestäubermännchen lernen relativ schnell, einmal besuchte Blüten gezielt zu vermeiden. Dies drückt sich in schnell nachlassenden Anflugraten aus. In Schwarmarealen gestellte Pflanzen werden von den lokalen Männchen in den ersten 5 Minuten heftig besucht. Schon nach 15 Minuten reagiert praktisch keines der Männchen mehr (Blüte 1). Wenn man anschließend eine neue Blüte postiert, steigt die Anflugrate sofort wieder an (Blüte 2), um meist noch schneller wieder nachzulassen. Auch bei einer weiteren dritten Blüte, kommen die Männchen meist wieder. Dies zeigt, dass die Blüten sich individuell unterscheiden und die Männchen darauf mit unterschiedlichen Anflugraten reagieren.

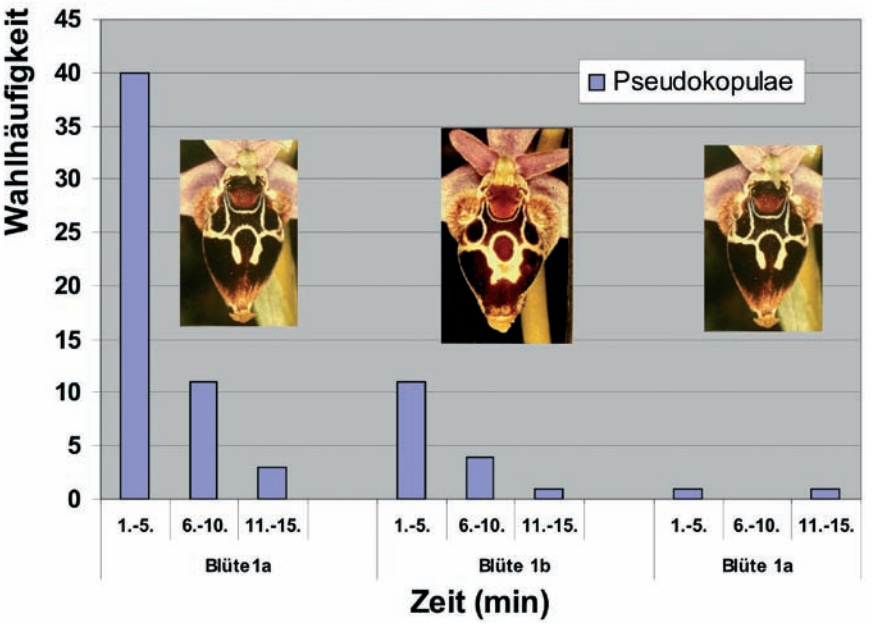

Abb. 24: Gleiches Experiment wie in Abb. 23 mit *Ophrys heldreichii* und *Eucera berlandi* in Kreta; diesmal wurde geprüft, ob die Männchen eine einmal bereits gebotene Blüte wieder erkennen. Dazu wurde zunächst eine Blüte geboten und die Lernkurve abgewartet (Blüte 1a). Danach wurde eine neue Blüte geboten (Blüte 1b). Wenn man anschließend die zuerst gebotene Blüte wieder anbietet (Blüte 1a), wird diese nun weitgehend ignoriert. Das bedeutet, dass sie wieder erkannt worden ist und gezielt vermieden wurde.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Das Ergebnis war erstaunlich eindeutig. Je niedriger die Blüten über dem Boden stehen, umso häufiger (wahrscheinlicher) werden sie gewählt. Dies entspricht den Beobachtungen, nach denen die Männchen in der Suche nach Weibchen stets dicht über dem Boden patroullieren. Tatsächlich gehört *Ophrys speculum* zu den Arten, die eher niederwüchsige Blütenstände aufweisen. Tatsächlich drückt sich dieses Blühverhalten ganz eindeutig im Fortpflanzungserfolg aus. Die niedrigsten Blüten hatten auch die meisten Massulae (Pollenpakete) und den höchsten Samenansatz (Abb. 22). Dieses Resultat gilt die Blühhöhe betreffend nicht für andere *Ophrys*-Arten, da Männchen andere Bestäuberarten an Buschrändern, in Blütenfeldern oder sonstwo patroullieren. Hier könnte auch ein gegenteiliger Seletionsdruck auftreten, nämlich sehr hochwüchsig zu sein. Tatsächlich können solche *Ophrys*-Arten, die von *Anthophora*- oder *Eucera*-Arten bestäubt werden, wesentlich hochwüchsiger sein.

4.2.2. Wie oft besuchen Bestäubermännchen Ophrys-Blüten?

Bei den zahlreichen Freilandbeobachtungen des Pseudokpopulationsverhaltens war immer wieder aufgefallen, dass die Männchen zwar intensiv angelockt werden, ihr Interesse aber nach erstaunlich kurzer Zeit erlahmte (PAULUS et al. 1983). Um zu prüfen, woran dies liegt, haben wir eine Reihe von Experimenten zum Lernverhalten durchgeführt. Zur Erklärung prüften wir zwei Hypothesen:

1. Blüten werden nach Besuchen und vor allem Bestäubungen schnell unattraktiv, weil sie ihre Duftproduktion einstellen.
2. Blüten werden individuell gelernt, um weitere Anflüge zu vermeiden, da die Männchen nicht wirklich zum Kopulationserfolg gekommen sind. Individuelles Erlernen setzt voraus, dass Blüten individuell unterscheidbar sind (PAULUS 1988a).

In Südspanien, Kreta und Tunesien wurden folgende Experimente durchgeführt:

Für die entsprechenden *Ophrys*-Arten wurden vorher die artspezifischen Bestäuber ermittelt und dann nach gut besetzten Schwarmarealen dieser Bienenarten gesucht. Dorthin wurden schließlich eingetopfte blühende *Ophrys*-Pflanzen transferiert. Am Ende der Experimentserien wurden alle Pflanzen wieder in ihre Ursprungsstandorte zurückgebracht. Folgende Artenpaare wurden untersucht:

Ophrys heldreichii	*Eucera berlandi*
Kreta (Griechenland)	
Ophrys picta (*scolopax* pars)	*Eucera barbiventris*
Südspanien (Malaga)	
Ophrys tenthredinifera	*Eucera nigrilabris*
Nord-Tunesien	

- Je eine der eingetopften Pflanzen von *Ophrys picta* (= *scolopax* pars), *Ophrys heldreichii* oder *Ophrys tenthredinifera* wurden in Schwarmbahnen patroullierender Bestäuber- Männchen gestellt und die Anflugraten in Zeitintervallen gezählt. Dazu war vorher durch Beobachtungen und Markierung der fliegenden Männchen festgestellt worden, dass in einem gut besetzten Schwarmareal etwa 10-12 Männchen konstant fliegen. Das entspricht den alten Beobachtungen von HAAS (1960). Das Ergebnis war stets gleich. Zunächst kommen in kürzester Zeit fast alle Männchen des Schwarmareals und machen mit den verschiedenen Blüten dieser Pflanze Paarungsversuche. Innerhalb von nur 15-30 Minuten ist das Interesse so stark erlahmt, dass die Anflugrate auf Null geht. Innerhalb eines Schwarmareals wurde der Ort mehrfach gewechselt, um Ortsdressur auszuschließen.
- Anschließend tauscht man die präsentierte Pflanze gegen eine neue Pflanze aus. Sofort steigt die Anflugrate wieder deutlich an, um wiederum nach kurzer Zeit auf Null zu gehen. Dies kann man noch zwei oder höchstens drei Mal wiederholen. Dann kommen die Männchen überhaupt nicht mehr.
- Mit den bereits getesteten Pflanzen gingen wir in benachbarte Schwarmareale, in denen neue Männchen flogen, die also *Ophrys*-Blüten unerfahren waren. Hier wiederholte sich im Prinzip das Verhalten der Vorexperimente. Die Mehrzahl der Männchen kam sofort, um mit den Blüten zu kopulieren. Ihr Interesse ließ schnell nach und konnte erst nach Austauschen der schon präsentieren Pflanze gegen eine noch nicht präsentierte wieder ausgelöst werden.
- Wenn man den Männchen schließlich eine schon vorher präsentierte Pflanze wieder anbot, stieg die Anflugrate nicht an (Abb. 23, 24).

Aus diesen Ergebnissen kann man nun Folgendes schließen:

1. Die Attraktivität der Blüten selbst hat sich nicht verändert, da sie noch Blüten unerfahrenen neuen Männchen präsentiert, sofort Paarungsverhalten auslösten.
2. Dies schließt auch eine weitere Denkmöglichkeit aus, dass Männchen von ihnen besuchte Blüten mit einer Duftmarke (Antiaphrodisiacum) versehen (KUKUK 1985). Um darüber hinaus auszuschließen, dass Männchen individuelle Duftmarken setzen, die nur sie persönlich als Abzeichen verwenden, wurden in einem anderen Experiment einzelne Blüten längs halbiert und frei fliegenden Männchen angeboten. Als die Anflugraten auf Null heruntergegangen waren, wurde denselben Männchen die andere Blütenhälfte präsentiert. In keinem Fall stieg anschließend

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

Abb. 25: Blütenvergleiche von 4 Pflanzen von *Ophrys heldreichii* aus Kreta. Sie zeigen, dass Blüten innerhalb eines Blütenstandes (jeweils senkrecht untereinander) untereinander ähnlicher sind als solche von Pflanzenindividuum zu Individuum (waagerechte Reihe).

die Anflugrate. Wenn man jedoch anschließend die Hälfte einer Blüte einer anderen Pflanze anbot, wurde diese sofort gewählt.

3. Daraus folgt, dass die Bienenmännchen die Pflanze offenbar individuell erlernen, um sie anschließend zu meiden. Demnach müssen die Pflanzenindividuen sich individuell unterscheiden und dieser Unterschied von den Männchen erkannt werden können (PAULUS et al. 1983, PAULUS 1988a).

4.2.3. Bestäuber-Männchen unterscheiden Blüten unterschiedlicher Pflanzenindividuen

Als unterscheidbare und daher erlernbare Unterschiede kommen sowohl die optischen als auch die olfaktorischen Signale in Frage. Leicht zu erkennen ist, dass in der Artengruppe um *Ophrys holoserica-oestrifera* erstaunlich variable Labellumzeichnungsmuster verbreitet sind, die so komplex sind, dass es kaum zwei Pflanzenindividuen gibt, die identische Muster besitzen. Die Blüten innerhalb eines Blütenstandes hingegen haben nahezu identische Muster. Dazu haben wir zunächst zwei Typen weiterer Freilandexperimente durchgeführt, die klären sollten, wie sicher zwei Blüten voneinander unterschieden werden können, wenn man sie simultan zur Wahl bietet. Wenn Männchen sie unterscheiden können und dies für sie eine Rolle spielt, sollten die Anflugraten zwischen beiden Blüten sich deutlich unterscheiden. Das sollte daran liegen, dass die Lippen der Blüten praktisch identische Lippen-Zeichnungsmuster und sicher auch Duftmuster haben.

A. Zwei Blüten ein und derselben Pflanze: Die Erwartung ist, dass sie nicht oder nicht nennenswert unterschieden werden. Dazu wurden jeweils zwei Blüten nebeneinander auf einen neutralen Untergrund gelegt und den fliegenden Männchen angeboten. Jede Minute wurden die Blüten Rechts-Links vertauscht, um Seitenbevorzugungen auszuschließen. Anschließend wurden alle Anflüge auf die jeweilige Blüte gezählt.
B. Zwei Blüten von verschiedenen Pflanzenindividuen: Die Erwartung hier ist, dass beide Blüten deutlich voneinander unterschieden werden, d.h. die Anflugraten signifikant unterschiedlich sind.

Die Ergebnisse sind in Abb. 23 und 24 dargestellt. Sie bestätigen, was sich in den vorherigen Experimenten bereits angedeutet hatte. Die Blüten desselben Blütenstandes werden zumindest im Vergleich zum anderen Resultat kaum (im Verhältnis 1 : 2), diejenigen von verschiedenen Pflanzenindividuen jedoch haushoch (im Verhältnis 1 : 9) unterschieden. Interessant ist jedoch, dass offenbar auch die Blüten innerhalb eines Blütenstandes noch unterschieden werden, obwohl sie in ihren Zeichnungsmustern gleich sind.

Da dieses Experiment noch keinen Schluss zulässt, ob die Unterscheidung anhand der Optik und/oder des Duftes erfolgt ist, wurden dieselben Experimente so wiederholt, dass die Bienenmännchen nur noch anhand der Optik allein wählen konnten. Dazu wurden Blüten in Acrylglaskästchen gestellt, deren Frontscheiben UV durchlässig waren. Damit konnte der jeweilige Blüten-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

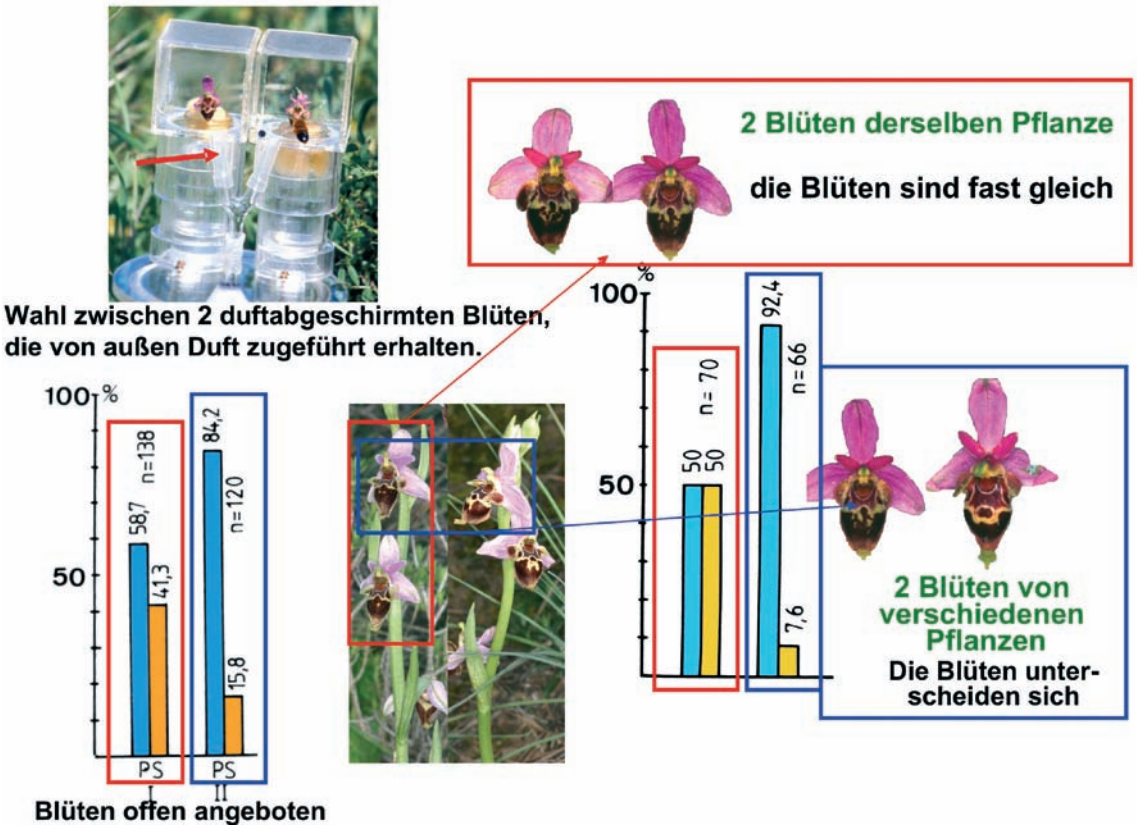

Abb. 26: Um zu prüfen, ob die individuelle Unterscheidung der Blüten von *Ophrys heldreichii* durch die *Eucera berlandi*-Männchen an ihren optischen Mustern und/oder an ihrem individuellen Duft liegen, wurde zwei Typen von Experimenten durchgeführt. Zwei Blüten derselben Pflanze sollten untereinander ähnlich sein und daher im Wahlexperiment nicht unterschieden werden. Dagegen sollten zwei Blüten von verschiedenen Pflanzen im Wahlexperiment sich so unterscheiden, dass stets eine der beiden häufiger besucht wird. Bei den offen gebotenen Blütenpaaren wurden die beiden Blüten derselben Pflanze leicht unterschiedlich häufig gewählt (Säulen links unten, I). Die beiden offen gebotenen Blüten verschiedener Pflanzen wurden wie erwartet sehr unterschiedlich gewählt. Meist war der Wahlunterschied fast 1 : 9 (Säulen rechte Bildhälfte, rechtes Diagramm, rot umrandet). Ein Blütenpaar derselben Pflanze Duft abgeschirmt geboten (also in Glaskästchen mit außen rechts und links identischem Duft), wurden jetzt überhaupt nicht unterschieden (Säulen rechte Bildhälfte, linkes Diagramm, rot umrandet), während diese von verschiedenen Pflanzen wiederum deutlich unterschieden worden sind (jeweils blau umrandet). Das bedeutet, dass in erster Linie der individuelle Duft zur Unterscheidung herangezogen wird.

duft abgeschirmt werden. Da Männchen auf die optischen Signale von *Ophrys*-Blüten allein so gut wie nicht reagieren, wurde Blütenduft mit Hilfe einer Luftpumpe zu den Glaskästchen geblasen. Über ein Y-Rohr wurde zu jedem Kästchen identischer Duft gebracht, so dass Wahlen nur anhand der Optik allein erfolgt sein können. Da die Männchen nicht landen konnten, wurde als positive Reaktion gezählt, wenn ein Tier beim offenkundigen Landungsversuch gegen die Frontscheibe tippte.

A. Zwei Blüten derselben Pflanze: Die Erwartung ist, da sie optisch identisch sind, dass sie nicht unterschieden werden (Abb. 25).
B. Zwei Blüten verschiedener Pflanzenindividuen: Hier sollte ein vergleichbarer Unterschied in den Wahlhäufigkeiten auftreten, wie im Experiment mit offen dargebotenen Blüten (Abb. 25).

Tatsächlich waren die Resultate ähnlich: Zwei Blüten verschiedener Pflanzen wurden deutlich unterschiedlich häufig gewählt. Zwei Blüten desselben Pflanzenindividuums wurden jetzt sogar gar nicht unterschieden (Abb. 26).

Daraus können nun weitere Schlüsse gezogen werden:

- Pflanzen derselben Art (hier *Ophrys heldreichii*) unterscheiden sich im Rahmen ihrer Artspezifität noch individuell. Neben den hochvariablen Labellum-Zeichnungsmustern muss es auch eine individuelle Duftvarianz geben.
- Diese sollte sogar innerhalb eines Blütenstandes auftreten.

AYASSE et al. (1997, 2000), SCHIESTL et al. (1997a,b; 2000) und vor allem SCHIESTL & AYASSE (2001) konn-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

ten dann nach Analyse der chemischen Komponenten bei *Ophrys sphegodes* tatsächlich aufzeigen, dass es neben einem artspezifischen Duftbouquets auch die postulierte Duftvarianz von Pflanze zu Pflanze und sogar eine innerhalb des Blütenstandes gibt. Diese wurde in verschiedenen Biotests von den Bestäubermännchen *Andrena nigroaenea* in gleicher Weise bewertet wie dies die oben erwähnten *Eucera*-Arten bei ihren *Ophrys*-Arten getan haben.

4.3. Vermeidung von Selbstbestäubung und Bestäubungsmaximierung

Halten wir nochmals fest, welche Resultate die Beobachtungen und Experimente erbrachten:

- Männchen werden in artspezifischer Weise durch exakte Kopien des weiblichen Sexuallockstoffbouquets angelockt (SCHIESTL et al. 1999, 2000; AYASSE et al. 2003). Sie versuchen die Blüten in vergleichbarer Weise zu begatten, wie sie dies mit ihren Weibchen tun würden.
- Nach einigen weiteren Anflügen lernen sie diese Blüten zu meiden, da sie bei ihnen nicht zum Erfolg gekommen sind. Sie behandeln sie daher wie nicht attraktive Weibchen (PAULUS et al. 1983, PAULUS 1988a). Habituation oder richtiges Lernen tritt in diesem Zusammenhang auch bei den Bienenmännchen gegenüber unattraktiven Weibchen auf (SMITH (1983).
- Um dies individuell zu erlernen, haben sowohl die Weibchen als auch die *Ophrys*-Blüten weitere Duftkomponenten, die neben der Artspezifität eine Individualität erzeugen (PAULUS 1988a, AYASSE et al. 2000).
- Individualität bei Bienenweibchen dient u.a. der Vermeidung von Geschwisterpaarungen oder allgemein der Verwandtenerkennung. Wenn Männchen zwischen nah- und weniger nah verwandten Weibchen wählen können, entscheiden sie sich für entfernte Verwandtschaft (BUCKLE & GREENBERG 1981, HEFETZ et al. 1986, BARROWS et al. 1975, MICHENER & SMITH 1987, SMITH & AYASSE 1987, WCISLO 1992, AYASSE et al. 2001).

Die Interpretation dieser Varianz kann nur die sein, dass diese in einem Zusammenhang mit der Maximierung des Bestäubungserfolges stehen muss, da sie unterschiedliche Anflughäufigkeiten und damit unterschiedlichen Fortpflanzungserfolg hervorrufen (PAULUS 1988a, 1997, 2006; AYASSE et al. 2000). Das ist so zu verstehen, dass Orchideen generell größere Probleme mit Selbstbestäubungsraten haben als andere Blütenpflanzen. Die Erfindung von Pollinien oder Pollinarien war eine Notwenigkeit, um mit wenigen Anflügen bereits riesige Pollenmengen auf die Narbe übertragen zu können. Nur dadurch können so riesige Samenmengen pro Blüte auch befruchtet werden. Orchideenblüten haben zwischen 15.000 und 1 Million Samen pro Einzelblüte (NAZAROV & GERLACH 1997). In solchen Pollinationssystemen hat eben auch Selbstbestäubung fatale Folgen, da auch hierbei große Pollenmengen einerseits falsch oder unerwünscht übertragen werden und andererseits dieser Pollen für eine korrekte Bestäubung verloren ist. Um also selfing zu vermeiden, bedarf es weiterer spezieller Anpassungen. Eine dieser Anpassungen besteht in der Entwicklung von Täuschungsmethoden, deren gemeinsamen Ziele darin bestehen, dass Bestäuber zwar angelockt, aber dann möglichst durch Nicht-Belohnen oder gar „Frustrationen" dazu zu bringen, nicht wieder zurückzukehren („pollinia-hypotheses" oder „selfpollination avoidance hypothesis" nach PAULUS & GACK 1980, 1990a; PAULUS 1988a, 2005, NILSSON 1992). Da die betreffenden Bestäuber in der Regel gut lernfähig sind, werden sie diese Blüten in Zukunft meiden. Dies gilt sowohl für die so genannten Nahrungstäuschblumen (*Orchis*, *Dactylorhiza*, *Cephalanthera* etc.) (GUMPERT & KUNZE 2001), aber auch für Instinkttäuschblumen (*Ophrys*), die wie bereits geschildert durch individuelle Duftnoten den Besuchern das Erlernen und Wiedererkennen individueller Blüten ermöglicht. In ähnlicher Richtung wird der Farbpolymorphismus bei *Dactylorhiza sambucina* oder *D. romana* gedeutet (NILSSON 1980, PETTERSON & NILSSON 1983, LAGUTOVA & NAZAROV 1991, GIGORD & al. 2001). Unsere „pollinia-hypothesis" ist eine sehr gute Erklärung dafür, dass ausgerechnet Orchidaceae einen so hohe Zahl an Täuschblumen evolviert haben. In der europäischen Flora sind diese über 70% aller Arten. Die einzigen weiteren Pflanzen, die ebenfalls mit Pollinien (Klemmpollinien) operieren, sind die Asclepiadaceae (milk weeds). Auch bei ihnen ist daher aus demselben Grund die Zahl der Täuschblumen sehr hoch (OLLERTON & LIEDE 1997).

Zur Bestäubungsmaximierung haben *Ophrys*-Blüten noch weitere Tricks evolviert. Wie bereits in den Wahlexperimenten zwischen zwei *Ophrys*-Blüten derselben Pflanze sich andeutete (PAULUS 1988a, PAULUS & GACK 1994), sind auch diese in ihrer Duftausstattung nicht identisch. Die gaschromatografische Analyse bestätigte dann auch, dass dies an unterschiedlichen Mengenverhältnissen der Alkane und Alkene im Blüten-Labellum liegt (SCHIESTL et al. 1997b, AYASSE et al. 2000). Durch die Vermeidereaktion einmal getäuschter Männchen fliegen diese daher mit höherer Wahrscheinlich zur nächsten Blüte im Blütenstand. Sie können dadurch ein weiteres Paar Pollinarien entnehmen und falls sie bereits alte Pollinarien mitbringen auch diese zweite Blüte bestäuben. Die zuvor entnommenen Pollinarien sind erst nach 2-3 Minuten einsatzfähig für eine Pollination,

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

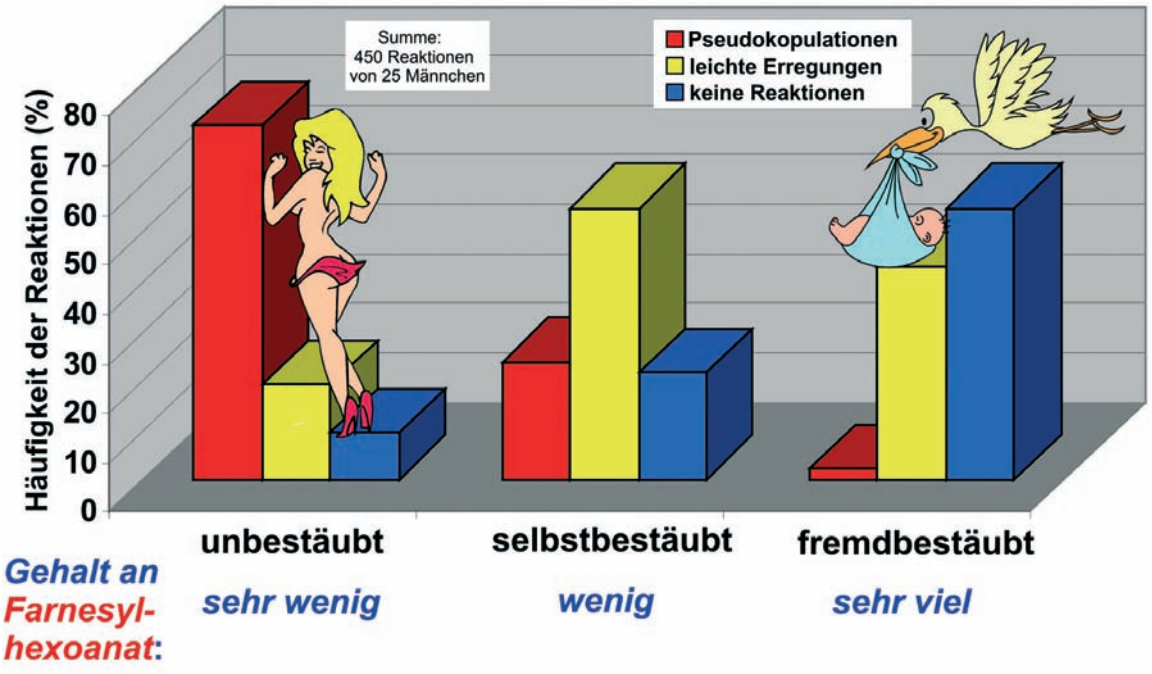

Abb. 27: Bestäubte *Ophrys*-Arten sollten ähnlich wie bereits begattete Weibchen dies ihren Bestäubern bzw. Männchen signalisieren. Dazu stellen die Bienenweibchen ihre Sexuallockstoffproduktion ein oder produzieren einen neuen Stoff als Repellent oder Antiaphrodisiakum. Bei *Ophrys sphegodes* wurde letzteres gefunden (SCHIESTL & AYASSE 2000). Im Akzeptanztest wurden 10 verschiedenen Männchen von *Andrena nigroaenea* drei Typen von *O. sphegodes* geboten: unbestäubte, selbst bestäubte und fremd bestäubte. Man lässt dazu diese Männchen über die Blüten laufen und registriert ihre Reaktionen. Drei Typen von Reaktionen sind möglich: Pseudokopulationen, leichte Erregung ohne Kopulationen und keine Reaktionen. In dem Säulendiagramm sind die Reaktionshäufigkeiten dargestellt. Ähnlich wie in den Freilandexperimenten von SCHIESTL et al. (1997a) und SCHIESTL & AYASSE (2000) zeigte sich, dass die Männchen auf die Anwesenheit von Farnesylhexoanat als Antiaphrodisiakum deutlich reagieren. Unbestäubte Blüten werden deutlich von den bestäubten unterschieden, ja sogar selbst bestäubte von fremd bestäubten. Aus der Sicht der Blüten macht dies Sinn, da bereits bestäubte Blüten weiteren Pollen nicht benötigen.

da ihre Stiele erst im Verlauf dieser Zeit so eintrocknen, dass sie sich nach vorne gesenkt haben.

Besonders raffiniert erscheint die Entwicklung weiterer Mechanismen, um bereits bestäubte Blüten für Männchen unattraktiv zu machen. Da *Ophrys*-Blüten bereits mit einer einzigen Bestäubung wesentlich mehr Pollen für die Befruchtung übertragen als für die Zahl Samenanlagen notwendig wären (PAULUS 1988a), sind weitere Anflüge Pollenverschwendung. Diese Männchen sollten dann eher zu den anderen noch nicht besuchten Blüten des Blütenstandes geleitet werden. Zwei prinzipielle Möglichkeiten sind denkbar. Ähnlich wie begattete Bienenweibchen für ihre Männchen sehr schnell unattraktiv werden, da sie entweder die Produktion ihrer Sexualpheromone einstellen oder gar ein Antiaphrodisiakum produzieren (SCHIESTL & AYASSE 2000), könnten auch *Ophrys*-Blüten in gleicher Weise operieren. Freiland- und Labor-Experimente mit *Andrena nigroaenea* und *Ophrys sphegodes* (Wien) sowei *Eucera nigrilabris* mit *Ophrys tenthredinifera* (Tunesien) zeigten, dass die Männchen klar zwischen bestäubten und nicht-bestäubten Blüten unterscheiden können. Im sogenannten Azeptanztest wurden *Andrena nigroaenea*-Männchen auf *Ophrys sphegodes*-Blüten gesetzt und registriert, ob sie sexuell erregt werden oder nicht. Heftiges Flügelschwirren verbunden mit Kopulationsbwegungen sind positive, einfaches darüber Hinweglaufen sind negative Reaktionen. Jedes Männchen wurde zehn Mal stets im Wechsel an eine bestäubte und anschließend unbestäubte Blüte gesetzt. Dabei wurden den Männchen außerdem allogam bestäubte und anschließend autogam bestäubte Blüten geboten. Die Summen der drei Reaktionstypen sind in Abb. 27 dargestellt. Wie zu erwarten zeigten die Männchen auf den unbestäubten Blüten fast immer heftige, auf den fremdbestäubten Blüten nur selten Reaktionen. Bemerkenswert ist, dass auf den selbstbestäubten Blüten, wenn auch weniger als bei den unbestäubten, aber dennoch Kopulationsverhalten gezeigt wurde. Bei den Freiflugtests mit Männchen von *Eucera nigrilabris* in Tunesien erhielt ich völlig vergleichbare Resultate. Wie die chemische Analyse der entsprechenden Blüten von *Ophrys sphegodes* mit anschließenden Biotests im Gelände zeigte, beruht die ablehnende Haltung der *Andrena nigroaenea*-Männchen

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

darauf, dass die *Ophrys*-Blüten nach erfolgter Bestäubung genau wie die Bienenweibchen Farnesylhexoanat als Antiaphrodisiakum produzieren (SCHIESTL et al. 1997a, SCHIESTL & AYASSE 2000). Bei *Ophrys speculum* mit *Dasyscolia ciliata*-Männchen finden wir den anderen Fall. Hier wird die Produktion des Sexualpheromons, bestehend aus wenigen Molekültypen aus der Gruppe der hydroxy acids sowohl bei den Weibchen als auch bei den *Ophrys*-Blüten nach erfolgter Begattung bzw. Bestäubung reduziert (AYASSE et al. 2003).

4.4. Artbildung

Die bislang vorliegenden Freilandbeobachtungen, zahlreichen Wahltests und vor allem der Duftanalysen zeigen, dass jede *Ophrys*-Art nur einen hochspezifisch angelockten Bestäuber besitzt. Dies ist eine Konsequenz einer entsprechenden spezifischen Selektion durch die Bestäubermännchen, nur solche Pflanzenindividuen zur Reproduktionserfolg zu verhelfen, die ihrer Weibchenerwartung am nächsten kommen. Dies hat weitere Konsequenzen für das Blühverhalten und die Blütenmorphologie, auf denen dann im Wesentlichen die taxonomischen Beurteilungen beruhen. Diese Männchen fungieren als sehr effektive prägame oder besser prä-pollinations-Isolationsmechanismus für die betreffenden *Ophrys*-Arten, die damit als biologische oder evolutionäre Arten definierbar sind. Dies bedeutet, dass jede Artbildung mit dem Erschließen eines neuen Bestäuber gekoppelt sein muss. Allopatrische Artbildung in der Gattung *Ophrys* ist wie bei allen anderen Tieren und Pflanzen leicht vorstellbar und bedarf lediglich des Aufzeigens von historischen Separationen der Areale, etwa des Zerfalls und Wiedervereinen von Inseln oder durch Senkungen und Hebungen des Meeresspiegels auftretende Landbrücken im Verlaufe der Eiszeiten. Inwieweit auch sympatrische Speziation eine Rolle gespielt hat, ist zwar denkbar, aber schwer zu zeigen. Dies setzt nämlich voraus, dass Teilpopulationen einer Art trotz ständigen Kontaktes in der Lage waren, einen neuen Bestäuber zu erschließen und Rückkreuzungen dennoch zu unterbinden. Im Fall der alle sehr nah verwandten Arten der *Ophrys fusca*-Gruppe wissen wir, dass ihre Duftbouquets zwar alle aus mehr oder weniger denselben Alkanen und Alkenen bestehen, ihre Spezifität durch eine spezifische Mischung dieser Moleküle hervorgerufen wird (SCHIESTL & AYASSE 2002). Artbildung und damit Erschließen eines neuen Bestäubers sollte daher lediglich eine Verschiebung des bestehenden Mischungsverhältnisses bedeuten. Dies scheint im Zuge der natürlichen Varianz in den Populationen leicht vorstellbar und mag ein gängiger Weg gewesen sein. Ein gutes Szenario könnte sein, dass eine *Ophrys*-Art über eine Periode von 4-6 Wochen blüht. Am Beginn der Blühzeit können nun andere *Andrena*-Arten sich zu Bestäubern entwickeln als am Ende dieser Zeit. Wenn die Flugzeiten der beiden Arten von Männchen genügend getrennt ist, sollte dies zur Entstehung zweier *Ophrys*-Arten führen, die in ihrer Blühzeit nun gestaffelt sind. Tatsächlich kenne ich viele Fälle gestaffelter Blühzeiten bei nah verwandten Arten der *Ophrys fusca*-Gruppe (PAULUS 1998, 2001b, PAULUS & SCHLÜTER 2007). Dies ist natürlich gleichzeitig ein Ausdruck von Einnischungen über getrennte Blühzeiten.

Eine Entstehung neuer Arten über Introgression (homoploide Hybridisierung) wird in der Botanik als häufiger Artbildungs-Mechanismus angenommen. Als wesentlich verbreiteter wird sogar das Phänomen der hybridogenen Polyploidie und Allopolyploidie angenommen (ANDERSON 1953, EHRENDORFER 1959, 1980). Da alle Arten der Gattung *Ophrys* im Wesentlichen identische Chromosomensätze aufweisen, kommt bestenfalls erstgenannter Modus in Frage. Artbildung über Hybridisierung bzw. Introgression wurde auch für Arten der Gattung *Ophrys* angenommen (STEBBINS & FERLAN 1956, EHRENDORFER 1959, 1980, DANESCH et al. 1975). Doch außer Plausibilitätsannahmen liegt bis heute kein einziger Nachweis vor. PAULUS & GACK (1995) und PAULUS (1997) schildern den Fall der sardischen *O. chestermanii* und der vermeintlichen Hybride mit *O. tenthredinifera*-aggr.: *O. normanii*. Bemerkenswert ist, dass *O. chestermanii* aus der *O. holoserica*-Gruppe und *O. normanii* aus der *O. tenthredinifera*-Gruppe sympatrisch denselben Bestäuber, die Hummel *Bombus* (*Psithyrus*) *vestalis*, nutzen. Vorläufige Duftstoffanalysen erbrachten, dass *O. normanii* eine ganze Reihe Duftkomponenten besitzt, bei den angenommenen Elternarten nicht vorkommen. Weitergehende Untersuchungen müssten populationsgenetische Methoden einsetzen, um trotz identischen Bestäubers den Genfluss und die mutmaßlichen Introgressionen zu überprüfen. Weitergehende Untersuchungen müssten populationsgenetische Methoden anwenden (z. B. AFLPs), um trotz identischen Bestäubers den Genfluss und die mutmaßlichen Introgressionen zu überprüfen.

4.5. Molekular-genetische Untersuchungen in der *Ophrys fusca*-Gruppe

4.5.1. Modelle der Artbildungen

Der leicht verständliche Weg der Artentstehung ist auch für Arten der Gattung *Ophrys* der über geographische Separationen (allopatrische Artbildung). Eine ganze Reihe von distinkten Arealen lässt am leichtesten diese Erklärung zu. Denoch sind wir im Detail nicht darüber unterrichtet. Phylogeographische Untersuchungen stehen noch weitgehend aus. Erste Resultate unserer molekularen Populationsanalysen im östlichen Mittelmeerraum (mit Schwerpunkten in Kreta und Rho-

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

dos) liegen allerdings vor (SCHLÜTER et al. 2007a-f, PAULUS & SCHLÜTER 2007). Es ist hier nicht der Ort, auf die zahlreichen Resultate einzugehen. Allgemein interessant sind jedoch Ergebnisse, die wahrscheinlich machen, dass allopatrische Speziationen die Regel sind oder dass es offenbar mehrfach zu konvergenten „Arten" gekommen ist. So scheinen aus der weit verbreiteten *Ophrys leucadica* mehrfach unabhängig sich neue Arten abgespalten zu haben. Ebenso scheint *Ophrys mesaritica* zwei Mal unabhängig aus *O. iricolor* entstanden zu sein, nämlich einmal in Kreta-Kythera und erneut auf den Ionischen Inseln (SCHLÜTER et al. 2007 a-f).

6. Entstehung von Sexualtäuschung

Sexualtäuschung setzt voraus, dass Blüten Signale erfinden, die zunächst nur Männchen anlocken, möglichst von nur einer oder wenigen verwandten Arten. Eine gute Prädisposition dafür ist, dass die verwendeten Duftstoffe generell bei Blüten weit verbreitet sind. Dies bedeutet, man muss nur noch die richtige Mischung erfinden. Eine Hypothese in dieser Richtung formulierte als erster VOGEL (1972). Er beobachtete in Elba Langhornbienenmännchen (*Eucera nigrescens*) dabei, wie sie *Orchis papilionacea*-Pflanzen dazu nutzten, im Zug ihrer territorialen Schwarmbahnen deren Blüten mit Duftmarken zu versehen. Wenn nun solche Blüten von sich aus beginnen, diese Duftmarken zu produzieren, sollten sie solche Schwarmareal markierende Männchen anlocken und dadurch Bestäubungserfolg erreichen können. Wir haben über viele Jahre erfolglos versucht, eine engere Bindung von *Eucera*-Arten und *Orchis*-Arten zu finden, die auf dem von Vogel geschilderten Markierverhalten beruht, so dass ich keine Evidenz für diese Hypothese finden konnte. Im Übrigen wäre mit dieser Duftimitation nur das Anlocken von Männchen gewährleistet, nicht jedoch der wesentliche Schritt in Richtung Kopulationsauslösung.

Die Tatsache, dass Sexualtäuschung nur bei Orchideen weltweit viele Male konvergent entstanden ist, zeigt, dass die Bestäubungsmechanismen dieser Familie offenbar eine gute Voraussetzung dafür liefern. Eine davon wird durch die „pollinia-hypothesis" beschrieben. Pollinien oder Pollinarien sind Pakete zur Übertragung von gewaltigen Pollenmengen und damit für eine quantativ außergewöhnlich hohe Bestäubungsrate. Das entscheidende daran ist, dass hierzu statistisch gesehen nur zwei Anflüge notwendig sind: Pollinienentnahme und anschließende Bestäubung auf einer zweiten Blüte. Die Pollenmengen, die dabei übertragen werden, reichen zu Befruchtung aller Samenanlagen (PAULUS 1988a). Genau dies lizenziert ungewöhnliche Lockmechanismen, besonders solche, die dem Lernen zugänglich sind, damit die mit Pollinien beladenen Tiere nicht zur selben Blüte zuückkehren. Dies dient der Minimierung von Selbstbestäubung. Tatsächlich sind bei Orchidaceae innerhalb der Täuschmanöver zwei Lockmethoden weit verbreitet: Nahrungs- und Sexualtäuschung. Allein in der europäischen Flora betreiben diese Strategien über 70% aller Arten. Dies zeigt, dass diese sehr erfolgreich ist. In der australischen Orchideenflora betreiben 11 Gattungen mit zusammen ca. 230 Arten Sexualtäuschung. In Südafrika kommen offenbar nur zwei *Disa*-Arten in diesem Zusammenhang vor (STEINER et al. 1994, JOHNSON et al. 1998). Wieweit das Phänomen in Südasien und Südamerika verbreitet ist, ist nur mangelhaft bekannt (van der PIJL & DODSON 1966, DAFNI 1984). Die australische Gattung *Caladenia* beinhaltet sowohl Arten mit Pseudokopulation als auch Nahrungstäuschblumen. Dies zeigt erstens, dass Sexualtäuschung auch in Australien mehrfach konvergent entstanden ist. Es zeigt aber auch, dass hier ein Entstehungsweg von Nahrungstäuschung aus gegangen ist. Welches die Vorläufersituation für die Gattung *Ophrys* gewesen sein könnte, ist nicht sicher zu sagen. Die Suche nach der phylogenetischen Schwestergattung ist bislang nicht eindeutig. Nach den DNA-Sequenzdaten haben ACETO et al. (1999) die Gattungen *Barlia*/*Himantoglossum*, PRIDGEON et al. (1997) den *Orchis*/*Anacamptis*/*Serapias*-Zweig und SOLIVA et al. (2001) allein die Gattung *Serapias* als Schwestergruppe errechnet. Wie immer die tatsächliche Position sein mag, entstammt *Ophrys* auf jeden Fall einem Verwandtschaftszweig aus Nahrungstäuschblumen. Hierzu hat DAFNI (1987) im Anschluss an BINO et al. (1982) ein Modell vorgestellt, in dem nur männliche *Lasioglossum marginatum* eine offensichtliche Nahrungstäuschblume (*Orchis galilaea*) besuchen. Er interpretiert das Verhalten durch das Vorhandensein von sexuell gefärbten Auslösern, die die Männchen wenigstens teilweise ansprechen. Auf den *Orchis*-Blüten suchen die Männchen dann allerdings auf den Pollenmalen der Lippe nach Nahrung. Ein vergleichbarer Fall findet sich in der Beziehung von *Chelostoma uliginosum* (Megachilidae) und *Cephalanthera rubra*. NILSSON (1983) konnte zeigen, dass die Orchideenblüte wichtige optische und vielleicht auch olfaktorische Signale von *Campanula*-Arten imitieren, in denen die *Chelostoma*-Männchen nach Weibchen suchen. Meine eigenen Untersuchungen zeigten, dass von der Orchideenblüte ähnlich wie bei *Orchis galilaea* (DAFNI et al. 1987) nur Männchen angelockt werden, die in der Blüte dann nach Nahrung suchen (Paulus unpubl.). Hier ist ein sexueller Zusammenhang deutlicher, da die Orchideenblüte wahrscheinlich nicht nur eine *Campanula*-Blüte vortäuscht, sondern eine solche Blüte, in der ein rezeptives Weibchen sitzt. So jedenfalls die Hypothese.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

7. Danksagungen

Bei den zahlreichen Untersuchungen haben eine Reihe von Leuten mitgewirkt. Nennen möchte ich vor allem meine früheren Mitarbeiter Herrn Prof. Dr. Manfred Ayasse (jetzt Universität Ulm) (Duftstoffanalysen), Herrn Prof. Dr. Florian Schiestl (jetzt Universität Zürich) (Duftstoffanalysen), Dr. Phillip Schlüter (jetzt Universität Zürich) (molekularen Analysen), Frau Dr. Claudia Gack (Universität Freiburg) (Bestäuberbeobachtungen), Dr. Johannes Spaethe (Universität Wien) (Verhaltensexperimente). Einige der Freilandexperimente in Kreta wurden vor allem mit meinem früheren Doktoranden Dr. Leo Rupp (Freiburg) konzipiert und durchgeführt. Ich habe weiterhin zu danken für die finanziellen Unterstützungen eines 3-jährigen *Ophrys*-Projektes (Paulus: P16727-B03) durch den Österreichischen Wissenschaftsfund (FWF), sowie der Österreichischen Akademie der Wissenschaften (ÖAW) im Rahmen eines KIÖS-Projektes (Kommission für interdisziplinär-ökologische Studien) (Finanzierung von Reisen und Materialsammlungen für Fingerprinting-Auswertungen in Kreta und Rhodos). Alle mühevollen und kompetenten DNA-Auswertungen stammen von Philipp Schlüter (jetzt Universität Zürich). Ohne die Mitwirkungen von Gudrun Kohl (Wien) (AFLPs, Sequenzierungen etc.) sowie Paulo & Claudete Ruas (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico of Brazil) (AFLPs, RTNs) wären viele Labor-Arbeiten schwierig gewesen. Auf einigen meiner Reisen haben mich Frau Monika Hirth (Freiburg) (Korfu, Kephallonia, Samos) und Hans Salkowsky (Valendar) (Kreta, Kos) begleitet und durch zahlreiche Diskussionen stimuliert. Für die Bestimmungen der Bestäuberbienen habe ich ganz besonders zu danken den Herren Fritz Gusenleitner (Biologiezentrum Linz) (*Andrena*), Herrn Maximilian Schwarz (Ansfelden) (*Anthophora*), Herrn B. Tkalců (Prag) (*Eucera*, *Anthophora*), Herrn Michael Kuhlmann (Universität Münster) (*Colletes*) und Herrn Stefan Risch (Leverkusen) (*Eucera*). Ohne deren mühevolle Spezialistenarbeit wären viele Aussagen unvollständig.

8. Literatur

ACETO S., CAPUTO P., COZZOLINO S., GAUDIO L. & A. MORETTI (1999): Phylogeny and evolution of *Orchis* and allied genera based on its DNA variation: Morphological gaps and molecular continuity. — Mol. Phylogentic Evol. **13**: 67-76.

ÅGREN L., KULLENBERG B. & T. SENSENBAUGH (1984): Congruences in pilosity between three species of *Ophrys* (Orchidaceae) in their hymenopteran pollinators. — Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis, Ser. **V**, **C 3**: 15-25.

ALCOCK L., BARROWS N.E., GORDH G., HUBBARD J. & L. KIRKENDALL (1978): The ecology and evolution of male reproductive behaviour in bees and wasps. — Zool. Linn. Soc. **64**: 293-326.

ANDERSON E. (1953): Introgressive hybridization. — Biol. Rev. **28**: 280-307.

AYASSE M., PAXTON R.J. & J. TENGÖ (2001): Mating behaviour and chemical communication in the order Hymenoptera. — Ann. Rev. Entomol. **46**: 31-76.

AYASSE M., SCHIESTL F.P., PAULUS H.F., ERDMANN D. & W. FRANCKE (1997): Chemical communication in the reproductive biology of *Ophrys sphegodes*. — Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Entomol. **11**: 473-476.

AYASSE M., SCHIESTL F.P., PAULUS H.F., LÖFSTEDT C., HANSSON B., IBARRA F. & W. FRANCKE (2000): Evolution of reproductive strategies in the sexually deceptive orchid *Ophrys sphegodes*: How does flower-specific variation of odor signals influence reproductive success? — Evolution **54** (6): 1995-2006.

AYASSE M., SCHIESTL F.P., PAULUS H.F., IBARRA F. & W. FRANCKE (2003): Pollinator attraction in a sexually deceptive orchid by means of unconventional chemicals. — Proc. Roy. Soc. London **B 270**: 517-522.

BALKOVSKY E. & B.I. SHRAIMAN (2002): Olfactory search at high Reynolds numbers. — Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A **10**: 1-1073.

BARROWS E.M., BELL W.J. & C.D. MICHENER (1975): Individual odor differences and their social functions in insects. — Proc. Nat. Akad. Sci. USA **72**: 2824-2828.

BATEMAN R.M., PRIDGEON A.M. & M.W. CHASE (1997): Phylogenetics of subtribe Orchidinae (Orchidoidea, Orchidaceae) based on nuclear ITS sequences. 2. Infrageneric relationships and reclassification to achieve monophyly of *Orchis* sensu strictu. — Lindleyana **12** (3): 113-141.

BAUMANN H. & S. KÜNKELE (1988): Die Orchideen Europas. — Kosmos Naturführer. Franckh'sche Verlagshandl. Stuttgart: 1-191.

BEARDSELL D.V. & P. BERNHARDT (1982): Pollination biology of Australian terrestrial orchids. — In: WILLIAMS E.G. et al. (Eds), Pollination 1982. — Proc. Symp. Plant Cell Biol. Res. Centr. Melbourne.

BERGSTRÖM G. (1978): Role of volatile chemicals in *Ophrys*-pollinator interactions. — In: HARBORNE G. (Ed.), Biochemical aspects of plant and animal coevolution, Academic Press: 207-231.

BERGSTRÖM G. & J. TENGÖ (1978): Linalool in mandibular gland secretion of *Colletes* bees (Hym., Apoidea). — J. Chem. Ecol. **4** (4): 437-449.

BERGSTRÖM G., TENGÖ J., REITH W. & W. FRANCKE (1982): Multicomponent mandibular gland secretions in three species of *Andrena* bees (Hymenoptera, Apoidea). — Z. Naturforsch. **37 C**: 1121-1129.

BINO R.J., DAFNI A. & A.D.J. MEEUSE (1982): The pollination ecology of *Orchis galilaea*. — New Phylologist **90**: 315-319.

BLANCO M.A. & G. BARBOZA (2005): Pseudocopulatory pollination in *Lepanthes* (Orchidaceae: Pleurothallidinae) by fungus gnats. — Annals of Botany **95** (5): 763-772.

BORG-KARLSON A.-K. (1987): Chemical basis for the relationship between *Ophrys* orchids and their pollinators. III. Volatile compounds of species in the *Ophrys* sections Fuciflorae and Bombyliflorae as insect mimetic attractans/ excitans — Chemica Scripta **27**: 313-325.

BORG-KARLSON A.-K. (1989): Attraction of *Phyllopertha horticola* (Coleoptera, Scarabaeidae) males to fragrance components of *Ophrys* flowers (Orchidaceae, section Fuciflorae). — Ent. Tidskr. **109**: 105-109.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

BORG-KARLSON A.-K. (1990): Chemical and ethological studies of pollination in the genus *Ophrys* (Orchidaceae). — Phytochemistry **29** (5): 1359-1387.

BORG-KARLSON A.K. & BERGSTRÖM G. & I. GROTH (1985): Chemical basis for the relationship between *Ophrys* orchids and their pollinators. I. Volatile compounds of *Ophrys lutea* and *O. fusca* as insect mimetic attractants/excitants. — Chemica Scripta **25**: 283-294.

BORG-KARLSON A.-K., BERGSTRÖM G. & B. KULLENBERG (1987): Chemical basis for the relationship between *Ophrys* orchids and their pollinators. II. Volatile compounds of *O. insectifera* and *O. speculum* as insect mimetic attractants/excitants. — Chemica Scripta **27**: 303-311.

BOWER C.C. & G.R. BROWN (1997): Hidden biodiversity: Detection of cryptic thynnine wasp species using sexually deceptive, female-mimicking orchids. — Mem. Mus. Victoria **56** (2): 461-466.

BRISCOE A. & L. CHITTKA (2001): The evolution of colour vision in insects. — Annual Review of Entomology **46**: 471-510.

BUCKLE G.P. & L. GREENBERG (1981): Nestmate recognition in sweat bees (*Lasioglossum zephyrum*): Does an individual recognize its own odor or only odors of its nest mates? — Anim. Behav. **29**: 802-809.

BÜEL H. (1978): Beobachtungen über die Bestäubung von *Ophrys bertolonii* Mor. — Die Orchidee **29**: 106-109.

BUTTLER K.P. (1986): Orchideen. Die wildwachsenden Arten und Unterarten Europas, Vorderasiens und Nordafrikas. — Mosaik Verl. München: 1-287.

CHITTKA L., SPAETHE J., SCHMIDT A. & A. HICKELSBERGER (2001): Adaptation, constraint, and chance in the evolution of flower colour and pollinator colour vision. — In: CHITTKA L. & J.D. THOMSON (Eds), Cognitive Ecology of Pollination. Cambridge University Press, Cambridge, 106-126.

COLEMAN E. (1927): Pollination of the orchid *Cryptostylis leptochila*. — Vict. Nat. Melb. **44**: 1.

CORREVON H. & A. POUYANNE (1916): Un curieux cas de mimétisme chez les Ophrydées. — J. Soc. nat. Horticult. France **17**: 29-31, 41-42, 84.

CORREVON H. & A. POUYANNE (1923): Nouvelles observations sur le mimétisme et de la fécondation chez les *Ophrys speculum* et *lutea*. — J. Soc. nat. Horticult. France **24**: 21-24.

DAFNI A. (1984): Mimicry and deception in pollination. — Ann. Rev. Ecol. Syst. **15**: 259-278.

DAFNI A. (1987): Pollination in *Orchis* and related genera: Evolution from reward to deception. — In: ARDITTI J. (Ed.), Orchid biology, Reviews and perspectives IV, Cornell Univ. Press, Ithaca: 80-104.

DANESCH O., DANESCH E., EHRENDORFER F. & K. EHRENDORFER (1975): Hybriden und hybridogene Arten aus *Ophrys bertolonii* und *O. atrata* (Orchidaceae). — Plant Syst. Evol. **124**: 79-123.

DARWIN C. (1877): Fertilisation of orchids: The various contrivances by which orchids are fertilised by insects (2. ed.). — London, John Murray.

DELFORGE P. (2005): Guide des Orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche-Orient. 3. Auflage. — Delachaux et Niestlé, Lausanne, Paris: 1-640.

DUFFIELD R.M., WHEELER J.W. & G.C. EICKWORT (1984): Sociochemicals of bees. — In: BELL W.J. & R.T. CARDÉ (Eds), Chemical ecology of insects. Chapman and Hall, London: 387-428.

EHRENDORFER F. (1959): Differentiation-hybridization cycles and polyploidy in *Achillea*. — Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **24**: 141-152.

EHRENDORFER F. (1980): Hybridisierung, Polyploidie und Evolution bei europäisch-mediterranen Orchideen. — In: SENGHAS K. & H. SUNDERMANN (Hrsg.), Probleme der Evolution bei europäischen und mediterranen Orchideen. Sonderheft „Die Orchidee", Brücke Verl., Hildesheim: 15-34.

EICKWORT G.C. & H.S. GINSBERG (1980): Foraging and mating behaviour in Apoidea. — Ann. Rev. Entomol. **25**: 421-446.

ENGEL R. (1985): La pollinisation d'*Ophrys fuciflora* (SCHMITT) MOENCH par un diptère. — Bull. Assoc. Philom. Alsace Lorraine **21**: 269-283.

ENGEL R. & JACQUET P. & P. QUENTIN (1997): Combinaisons nouvelles pour les Orchidaceae de la flore de France. — L'Orchidophile **127**: 133-134.

FRANCKE W. & S. SCHULZ (1999): Pheromones. — In: BARTON D. & K. NAKANISHI (Eds), Comprehensive Natural Product Chemistry vol. **8**. Elsevier, Amsterdam: 197-261.

FREE J.B. (1987): Pheromones of social bees. — Chapman and Hall, Landon.

GIGORD L.D.B., MACNAIR M.R. & A. SMITHSON (2001): Negative frequency-dependent selection maintains a dramatic flower colour polymorphism in the rewardless orchid *Dactylorhiza sambucina* (L.) SOÒ. — Proc. Natl. Acad. Sci. **98** (11): 6253-6255.

GODFERY M.J. (1922): Notes on the fertilisation of orchids. — J. Bot. London **60**: 359-361.

GODFERY M.J. (1925a): The fertilisation of *Ophrys speculum*, *O. lutea* and *O. fusca*. — Orchid Rev. **33**: 33-40, 67-69, 195.

GODFERY M.J. (1925b): The fertilisation of *Ophrys speculum*, *O. lutea* and *O. fusca*. — J. Bot. (London) **63**: 33-40.

GODFERY M.J. (1927): The fertilisation of *Ophrys fusca* LINK. — J. Bot. (London) **65**: 350-351.

GODFERY M.J. (1929): Recent observation on the pollination of *Ophrys*. — J. Bot. London **67**: 298-302.

GODFERY M.J. (1930): Further notes on the fertilisation of *Ophrys fusca*, and *O. lutea*. — J. Bot. London **68**: 237-238.

GÖLZ P. & H.R. REINHARD (1977): Weitere Beobachtungen über die Bestäubung von *Ophrys speculum* LINK. — Die Orchidee **28**: 147-148.

GUMBERT A. & J. KUNZE (2001): Colour similarity to rewarding model plants affects pollination in a food deceptive orchid, Orchis boryi. — Biological Journal of the Linnean Society **72**: 419-433.

HAAS A. (1960): Vergleichende Verhaltensstudien zum Paarungsschwarm solitärer Apiden. — Z. Tierpsychol. **17**: 402-416.

HEFETZ A., BERGSTRÖM G. & J. TENGÖ (1986): Species, individual and kin specific blends in Dufour's gland secretions of Halictine bees, chemical evidence. — J. Chem. Ecol. **12** (1): 197-208.

HERMOSILLA C.D., ARMADEIH J.P. & R. SOCA (1999): *Sterictophora furcata* VILLIERS, pollinisateur d'*Ophrys subinsectifera* HERMOSILLA & SABANDO. — L'Orchidophile **139**: 147-154.

JOHNSON S.D., LINDER H.P. & K.E. STEINER (1998): Phylogeny and radiation of pollination systems in *Disa* (Orchidaceae). — Amer. J. Bot. **85**: 402-411.

KUKUK P.F. (1985): Evidence for an antiaphrodisiac in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum*. — Science **227**: 656-657.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

KULLENBERG B. (1949): A description in Swedish with two photographs of the visit of the male *Campsoscolia ciliata* on the flower of *Ophrys speculum.* — Sverig. Natur (Svenska naturskyddsför. arsbok) **1949**: 96-97.

KULLENBERG B. (1956): On the scents and colours of *Ophrys* flowers and their specific pollinators among the aculeate Hymenoptera. — Svensk Bot. Tidskr. **50**: 25-46.

KULLENBERG B. (1961): Studies in *Ophrys* pollination. — Zool. Bidr. Uppsala **34**: 1-340.

KULLENBERG B. (1973a): Field experiments with chemical sexual attractants on aculeate Hymenoptera males II. — Zoon (suppl.**1**): 31-42.

KULLENBERG B. (1973b): New observations on the pollination of *Ophrys*. — Zoon (suppl. **1**): 9-14 (Uppsala).

KULLENBERG B. & G. BERGSTRÖM (1976): Hymenoptera aculeata males as pollinators of *Ophrys*. — Zool. Scripta **5**: 13-23.

KULLENBERG B., BÜEL H. & B. TKALC (1984): Übersicht von Beobachtungen über Besuche von *Eucera*- und *Tetralonia*-Männchen auf *Ophrys*-Blüten (Orchidaceae). — Nova Acta Reg. Soc. Sci. Uppsaliensis, Ser. **V**, C, **3**: 27-40.

LAGUTOVA O.I. & V.V. NAZAROV (1991): Pollination ecology of *Dactylorhiza romana* Soo (Orchidaceae). — Ukrayins'kyi Botanichnyi Zhurnal **50** (1): 107-110 (in Ukrainisch mit Engl. summary).

LARSEN O.N., GLEFFE G. & J. TENGÖ (1986): Vibration and sound communication in solitary bees and wasps. — Physiol. Entomol. **11**: 287-296.

LEVIN D.A. (1978): The origin of isolating mechanisms in flowering plants. — Evolutionary Biology **11**: 185-317.

LUNAU K. (2000): Ecology and evolution of visual pollen signals. — Plant Syst. Evol. **222**: 89-111.

LUNAU K., WACHT S. & L. CHITTKA (1996): Colour choices of naive bumble bees and their implications for colour perception. — J. Comp. Physiol. **A 178**: 477-489.

MADDOCKS R. & H.F. PAULUS (1987): Quantitative Aspekte der Brutbiologie von *Osmia rufa* und *O. cornuta* (Hymenoptera, Megachilidae) – Eine vergleichende Untersuchung zu Mechanismen der Konkurrenzverminderung zweier nah verwandter Bienenarten. — Zool. Jb. Syst. **114** (1): 15-44.

MICHENER C.D. & B.H. SMITH (1987): Kin recognition in primitively eusocial insects (209-242). — In: FLETCHER D.J.C. & C.D. MICHENER (Eds), Kin recognition in animals. Wiley, Chichester, 1-465.

MOLNÁR A. (1998): Über die Bestäubung von *Ophrys helenae* RENZ. — Mitt. Bl. Arbeitskr. Heim. Orch **30** (3): 588-590.

MÜLLER H. (1879): Die Wechselbeziehungen zwischen den Blumen und den ihre Kreuzung vermittelnden Insekten. — In: SCHENK A. (Hrsg.), Handbuch der Botanik Bd. **1**, Verl. Eduard Trewendt, Breslau: 1-112.

NAZAROV V.V. & G. GERLACH (1997): The potential seed productivity of orchid flowers and pecularitiespeculiarities of their pollination system. — Lindleyana **12** (4): 188-204.

NELSON E. (1962): Gestaltwandel und Artbildung erörtert am Beispiel der Orchidaceen Europas und der Mittelmeerländer, insbesondere der Gattung *Ophrys*. — Selbstverlag Chernex-Montreux.

NILSSON L.A. (1980): The pollination ecology of *Dactylorhiza sambucina* (Orchidaceae). — Bot. Notiser **133**: 367-385.

NILSSON L.A. (1983): Mimesis of bellflower (*Campanula*) by the red helleborine orchid *Cephalanthera rubra*. — Nature **305**: 799-800.

NILSSON L.A. (1992): Orchid pollination biology. — Trends in Ecology and Evolution **7** (8): 255-259.

OLLERTON J. & S. LIEDE (1997): Pollination systems in the Asclepiadaceae: a survey and preliminary analysis. — Biological Journal of the Linnean Society **62**: 593-610.

PASTEUR G. (1982): A classificatory review of mimicry systems. — Ann. Rev. Ecol. Syst. **13**: 169-199.

PAULUS H.F. (1978): Co-Evolution zwischen Blüten und ihren tierischen Bestäubern. — Sonderbd. Naturwiss. Ver. Hamburg **2** (Parey Verl.): 51-81.

PAULUS H.F. (1988a): Co-evolution and unilateral adaptions in flower – pollinator systems. Pollinators as pacemakers in the evolution of flowers (Co-Evolution und einseitige Anpassungen in Blüten-Bestäubersystemen: Bestäuber als Schrittmacher in der Blütenevolution). — Verh. Deutsch. Zool. Ges. **81**: 25-46.

PAULUS H.F. (1988b): Beobachtungen und Experimente zur Pseudokopulation auf *Ophrys*-Arten (Orchidaceae) Kretas (II) - mit einer Beschreibung von *Ophrys sitiaca* H.F. PAULUS & C.+ A. ALIBERTIS nov.spec. aus dem *Ophrys fusca-omegaifera*-Formenkreis. — Mittl. Bl. Arbeitskr. Heim. Orchid. Baden-Württ. **20** (4): 817-882.

PAULUS H.F. (1997): Signale in der Bestäuberanlockung: Weibchenimitation als Bestäubungsprinzip bei der mediterranen Orchideengattung *Ophrys*. — Verh. Zool.-Bot. Ges. Österreich **134**: 133-176.

PAULUS H.F. (1998): Der *Ophrys fusca* s.str. – Komplex auf Kreta und anderer Ägäisinseln mit Beschreibungen von *O. blitopertha*, *O. creberrima*, *O. cinereophila*, *O. cressa*, *O. thriptiensis* und *O. creticola* spp.nov. (Orchidaceae). — Jour. Eur. Orch. **30** (1): 157-201.

PAULUS H.F. (2001a): Material zu einer Revision des *Ophrys fusca* s.str. Artenkreises I. *Ophrys nigroaenea-fusca*, *O. colletes-fusca*, *O. flavipes-fusca*, *O. funerea*, *O. forestieri* oder was ist die typische *Ophrys fusca* LINK 1799 (Orchidaceae)? — Jour. Eur. Orch. **33** (1): 121-177.

PAULUS H.F. (2001b): Daten zur Bestäubungsbiologie und Systematik der Gattung *Ophrys* in Rhodos (Griechenland) mit Beschreibung von *Ophrys parvula*, *Ophrys persephonae*, *Ophrys lindia*, *Ophrys eptapigiensis* spp. nov. aus der *Ophrys fusca* s.str. Gruppe und *Ophrys cornutula* spec.nov. aus der *Ophrys oestrifera*-Gruppe (Orchidaceae und Insecta, Apoidea). — Ber. Arbeitskrs. heim. Orchid. **18** (1): 38-86.

PAULUS H.F. (2005): Pollination biology of central European orchids (Bestäubungsbiologie heimischer Orchideen). — In: ARBEITSKREISE HEIMISCHE ORCHIDEEN (Hrsg.), Die Orchideen Deutschlands. Uhlstädt-Kirchhasel: 98-140.

PAULUS H.F. (2006): Deceived males – Pollination biology of the Mediterranean orchid genus *Ophrys* (Orchidaceae). — J. Europ. Orchid. **38** (2): 303-353.

PAULUS H.F. & C. GACK (1980): Beobachtungen und Untersuchungen zur Bestäubungsbiologie südspanischer *Ophrys*-Arten. — In: SENGHAS K. & H. SUNDERMANN (Hrsg.), Probleme der Evolution bei europäischen und mediterranen Orchideen. Die Orchidee (Sonderheft **1980**): 55-68.

PAULUS H.F. & C. GACK (1981): Neue Beobachtungen zur Bestäubungsbiologie (Pseudokopulation) verschiedener südspanischer *Ophrys*arten, unter besonderer Berücksichtigung der Formenkreises *Ophrys fusca* agg. — Plant Syst. Evol. **137**: 241-258.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

PAULUS H.F. & C. GACK (1983): Untersuchungen des *Ophrys fusca*-Formenkreises in Südspanien. Ein Beitrag zum Biospezieskonzept der Gattung *Ophrys*. — Die Orchidee (Sonderheft) **1983**: 65-72.

PAULUS H.F. & C. GACK (1984): Evolutionary significance of variability in *Ophrys* – learning experiments with pseudocopulating bee males. — Proc. XVII. Int. Congr. Entomol. Hamburg: 440.

PAULUS H.F. & C. GACK (1986): Neue Befunde zur Pseudokopulation und Bestäuberspezifität in der Gattung *Ophrys* – Untersuchungen in Kreta, Süditalien und Israel. — In: SENGHAS K. & H. SUNDERMANN (Hrsg.), Probleme der Taxonomie, Verbreitung und Vermehrung europäischer und mediterraner Orchideen II. Die Orchidee, Brücke Verl. Hildesheim, Sonderband: 48-86.

PAULUS H.F. & C. GACK (1988): Beobachtungen und Experimente zur Pseudokopulation auf *Ophrys*-Arten Kretas (II) mit einer Beschreibung von *Ophrys sitiaca* H.F. PAULUS, C. GACK & A. ALIBERTIS nov.spec. aus dem *Ophrys fusca-omegaifera*-Formenkreis. — Mitt. Bl. Arbeitskr. Heim. Orch. Baden-Württ. **20** (4): 817-882.

PAULUS H.F. & C. GACK (1990a): Pollinators as prepollinating isolation factors: Evolution and speciation in *Ophrys* (Orchidaceae). — Israel J. Botany **39**: 43-79.

PAULUS H.F. & C. GACK (1990b): Pollination of *Ophrys* (Orchidaceae) in Cyprus. — Plant Syst. Evol. **169**: 177-207.

PAULUS H.F. & C. GACK (1990c): Untersuchungen zur Pseudokopulation und Bestäuberspezifität in der Gattung *Ophrys* im östlichen Mittelmeerraum (Orchidaceae und Insecta, Hymenoptera, Apoidea). — In: SENGHAS K., SUNDERMANN H. & W. KOLBE (Hrsg.), Probleme bei europäischen und mediterranen Orchideen. Jber. Naturwiss. Ver. Wuppertal **43**: 80-118.

PAULUS H.F. & C. GACK (1990d): Zur Pseudokopulation und Bestäuberspezifität der Gattung *Ophrys* in Sizilien und Süditalien (Orchidaceae und Insecta, Apoidea). — In: SENGHAS K., SUNDERMANN H. & W. KOLBE (Hrsg.), Probleme bei europäischen und mediterranen Orchideen. Jber. Naturwiss. Ver. Wuppertal **43**: 119-141.

PAULUS H.F. & C. GACK (1993): Schlafplatzmimikry bei der mediterranen Orchidee *Ophrys helenae*. — Verh. Dt. Zool. Ges. Salzburg **86**: 267.

PAULUS H.F. & C. GACK (1994): Signalfälschung als Bestäubungsstrategie in der mediterranen Orchideengattung *Ophrys* – Probleme der Artbildung und der Artabgrenzung. — In: BREDEROO P. & D.W. KAPTEYN DEN BOUMEESTER (Hrsg.), Int. Symp. Europ. Orchids, Eurorchis (Utrecht/Haarlem) **1992**: 45-71.

PAULUS H.F. & C. GACK (1995): Zur Pseudokopulation und Bestäubung in der Gattung *Ophrys* (Orchidaceae) Sardiniens und Korsikas. — Jber. Naturwiss. Ver. Wuppertal **48**: 188-227, 2 Farbtafeln.

PAULUS H.F. & GACK C. & R. MADDOCKS (1983): Beobachtungen und Experimente zum Pseudokopulationsverhalten an *Ophrys* (Orchidaceae): Das Lernverhalten von *Eucera barbiventris* (Apoidea, Anthophoridae) an *Ophrys scolopax* in Südspanien. — In: SENGHAS K. & H. SUNDERMANN (Hrsg.), Probleme der Taxonomie und Vermehrung europäischer und mediterraner Orchideen. Die Orchidee (Sonderheft) **1983**, Brücke Verlag Hildesheim: 73-79.

PAULUS H.F. & P.M. SCHLÜTER (2007): Neues aus Kreta und Rhodos: Bestäubungsbiologie und molekular-genetischen Trennung in der *Ophrys fusca*-Gruppe, mit Neubeschreibungen von *Ophrys phaidra* PAULUS nov.sp., *O. pallidula* PAULUS nov.sp. und *O. kedra* PAULUS nov.sp. aus Kreta (Orchidaceae und Insecta, Apoidea). — Jber. Naturwiss. Ver. Wuppertal (im Druck).

PETTERSON G. & L.A. NILSSON (1983): Pollinationsekologin hos Adam och Eva pa Stora Karlsö. — Svensk Bot. Tidskr. **77**: 123-132.

PIJL L. van der & C.H. DODSON (1966): Orchid flowers. Their pollination and evolution. — Univ. Miami Press, Coral Gables, 1-214.

PIRSTINGER P. (1996): Untersuchung der Lippenbehaarung der Gattung *Ophrys* (Orchidaceae) und ihrer Bestäuberweibchen (Apoidea). — Diplomarbeit Univ. Wien, 1-96.

POUYANNE A. (1917): La fécondation des *Ophrys* par les insectes. — Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Noire **8**: 6-7.

PRIDGEON A.M., BATEMAN R.M., COX A.V., HAPMAN J.M. & M.W. CHASE (1997): Phylogenetics of subtribe *Orchidinae* (Orchidoidea, Orchidaceae) based on nuclear ITS sequences. 1. Intergeneric relationships and polyphyly of *Orchis* sensu latu. — Lindleyana **12** (2): 89-109.

PRIESNER E. (1973): Reaktionen von Riechrezeptoren männlicher Solitärbienen (Hymenoptera, Apoidea) auf Inhaltsstoffe von *Ophrys*-Blüten. — Zoon suppl. **I**: 43-54.

RAW A. (1976): The behaviour of males of the solitary bee *Osmia rufa* (Megachilidae) searching for females. — Behaviour **56**: 279-285.

ROELOFFS W.L. (1995) : The chemistry of sex attraction. — In: EISNER T. & J. MEINWALD (Eds), Chemical Ecology. The Chemistry of Biotic Interactions. National Acad. Press, Washington DC: 103-117.

SASAKI M. & ONO M. & ASADA S. & T. YOSHIDA (1991): Oriental orchid (*Cymbidium pumilum*) attracts drones of the Japanese honeybee (*Apis cerana japonica*) as pollinators. — Experientia (Basel) **47**: 1229-1231.

SCHIESTL F.P. & M. AYASSE (2000): Post-mating odor in females of the solitary bee, *Andrena nigroaenea* (Apoidea, Andrenidae), inhibits male mating behavior. — Behav. Ecol. Sociobiol **48**: 303-307.

SCHIESTL F.P. & M. AYASSE (2001): Post-pollination emission of a repellent compound in a sexually deceptive orchid: a new mechanism for maximising reproductive success? — Oecologia **126**: 531-534.

SCHIESTL F.P. & M. AYASSE (2002): Do changes in floral odor cause speciation in sexually deceptive orchids? — Plant Syst. Evol. **234** (1-4): 111-119.

SCHIESTL F.P., AYASSE M., PAULUS H.F., ERDMANN D. & W. FRANCKE (1997a): Variations of floral scent emission and post-pollination changes in individual flowers of *Ophrys spegodes* subsp. *sphegodes* (Orchidaceae). — J. Chem. Ecol. **23** (12): 2881-2895.

SCHIESTL F.P., AYASSE M., PAULUS H.F., ERDMANN D. & W. FRANCKE (1997b): Variation of the pollinator-attracting odor signals and reproductive success in *Ophrys sphegodes* subsp. *sphegodes* MILLER (Orchidaceae). — Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Ent. **11**: 477-480.

SCHIESTL F.P. & AYASSE M. & PAULUS H.F. & W. FRANCKE (1999a): The sex pheromone of the solitary bee *Andrena nigroaenea* and its mimic in the sexually deceptive orchisd *Ophrys sphegodes*. — Zoology **102**: 35.

SCHIESTL F.P., AYASSE M., PAULUS H.F., LÖFSTEDT C., HANSSON B.S., IBARRA F. & W. FRANCKE (1999b): Orchid pollination by sexual swindle. — Nature **399**: 421-422.

© Biologiezentrum Linz, download unter www.biologiezentrum.at

SCHIESTL F.P., AYASSE M., PAULUS H.F., LÖFSTEDT C., HANSSON B.S., IBARRA F. & W. FRANCKE (2000): Sex pheromone mimicry in the early spider orchid (*Ophrys sphegodes*): patterns of hydrocarbons as the key mechanism for pollination by sexual deception. — J. comp. Physiol. **A 186**: 567-574.

SCHIESTL F.P., PEAKALL R., MANT J.G., IBARRA F., SCHULZ C., FRANKE S. & W. FRANCKE (2003): The Chemistry of Sexual Deception in an Orchid-Wasp Pollination System — Science **302**: 437-438.

SCHLÜTER P.M. & STUESSY T.F. & H.F. PAULUS (2005a): Making the first step: Practical considerations for the isolation of low-copy nuclear sequence markers. — Taxon **54** (3): 766-770.

SCHLÜTER P.M., RUAS P.M., KOHL G., STUESSY T.F. & H.F. PAULUS (2005b): Do pollinators really act as isolating factors in the sexually deceptive orchid *Ophrys*? — XVII. Int. Congress Botany Vienna, Abstracts 1-311.

SCHLÜTER P.M., RUAS P.M., KOHL G., RUAS C.F., STUESSY T.F. & H.F. PAULUS (2007a): Reproductive isolation in the *Ophrys omegaifera* complex (Orchidaceae). — Plant Syst. Evol. (im Druck).

SCHLÜTER P.M., RUAS P.M., KOHL G., RUAS C.F., STUESSY T.F. & H.F. PAULUS (2007b): Evolution of sexually deceptive *Ophrys fusca* s.l. (Orchidaceae) on Crete. — Evolution (submitted).

SCHLÜTER P.M., RUAS P.M., KOHL G., RUAS C.F., STUESSY T.F. & H.F. PAULUS (2007c): Evolution of the sexually deceptive orchid *Ophrys mesaritica* from *O. iricolor* by convergent pollinator shifts. — Bot. J. Linn. Soc. (submitted).

SCHLÜTER P.M., STUESSY T.F. & H.F. PAULUS (2007d): Inferring evolutionary relationships in closely related taxa of the sexually deceptive *Ophrys* sect. *Pseudophrys* (Orchidaceae) from DNA fingerprint and sequence data. — American Journal of Botany (submitted).

SCHLÜTER P.M., KOHL G., STUESSY T.F. & H.F. PAULUS (2007e): Phylogenetic utility of the low-copy gene LFY in closely related species of orchids (*Ophrys*). — Taxon (submitted).

SCHLÜTER P.M., RUAS P.M., KOHL G., RUAS C.F., STUESSY T.F. & H.F. PAULUS (2007f): Genetic structure of the Aegean *Ophrys leucadica* and *O. cinereophila* (Orchidaceae) and related taxa. — Mol. Ecol. (submitted).

SEIDELMANN K. (1999): The race for females: the mating system of the red mason bee, *Osmia rufa*. — J. Insect Behav. **12** (1): 13-25.

SINGER R.B. (2002): The Pollination Mechanism in *Trigonidium obtusum* LINDL. (Orchidaceae: *Maxillariinae*): Sexual Mimicry and Trap-flowers. — Annals of Botany. **89** (2):157-163.

SINGER R.B., FLACH A., KOEHLER S., MARSAIOLI A.J., DO CARMO E. & M. AMARAL (2004): Sexual Mimicry in *Mormolyca ringens* (LINDL.) SCHLTR. (Orchidaceae: *Maxillariinae*). — Annals of Botany **93**: 755-762.

SMITH B.H. (1983): Recognition of female kin by male bees through olfactory signals. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA **80**: 4551-4553.

SMITH B.H. & M. AYASSE (1987): Kin based male mating preferences in two species of halictine bees. — Behavior. Ecol. Sociobiol. **20**: 313-318.

SOLIVA M., KOCYAN A. & A. WIDMER (2001): Molecular phylogenetics of the sexually deceptive orchid genus *Ophrys* (Orchidaceae) based on nuclear and chloroplast DNA sequences. — Mol. Phylogenet. Evol. **20** (1): 78-88.

STEBBINS G.L. (1966): Processes of Organic Evolution. — New York/London.

STEBBINS G.L. Jr. & L. FERLAN (1956): Population variability, hybridization and introgression in some species of *Ophrys*. — Evolution **10**: 32-46.

STEINER K., WHITEHEAD V.B. & S.D. JOHNSON (1994): Floral and pollinator divergence in two sexually deceptive south African orchids. — American Journal of Botany **81**: 185-194.

STÖKL J., PAULUS H.F., DAFNI A., SCHULZ C., FRANCKE W. & M. AYASSE (2005): Pollinator attracting odour signals in sexually deceptive orchids of the *Ophrys fusca* group. — Plant Systematics and Evolution **254**: 105-120.

STOUTAMIRE W.P. (1975): Pseudocopulation in Australian orchids. — American Orchid. Soc. Bull. **44**: 226-233.

SUNDERMANN H. (1980): Europäische und mediterrane Orchideen. 3.Aufl. — Brücke Verl. Hildesheim, 1-243.

TENGÖ J. & G. BERGSTRÖM (1976): Comparative analysis of lemon smelling secretions from heads of *Andrena* F. (Hym., Apoidea) bees. — Comp. Biochem. Physiol. **55B**: 179-188.

TENGÖ J. & G. BERGSTRÖM (1977): Comparative analysis of complex secretions from heads of *Andrena* bees (Hym., Apoidea). — Comp. Biochem. Physiol. **57B**: 197-202.

VÖTH W. (1984): Bestäubungsbiologische Beobachtungen an griechischen *Ophrys*-Arten. — Mitt. Bl. Arbeitskr. Heim. Orchid. Baden-Württ. **16**: 1-20.

VOGEL S. (1972): Pollination von *Orchis papilionacea* in den Schwarmbahnen von *Eucera tuberculata*. — Jber. Naturwiss. Ver. Wuppertal **25**: 67-74.

WARNCKE K. & B. KULLENBERG (1984): Übersicht über von *Andrena*- und *Colletes cunicularius*-Männchen auf *Ophrys*-Blüten (Orchidaceae). — Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis, Ser. **V**: **C**, **3**: 41-55.

WCISLO W.T. (1992): Attraction and learning in mate finding by solitary bees, *Lasioglossum* (*Dialictus*) *figueresi* WCISLO and *Nomia triangulifera* VACHAL (Hymenoptera, Halictidae). — Behavior. Ecol. Sociobiol. **31**: 139-148.

WOLF T. (1950): Pollination and fertilization of fly-orchis *Ophrys insectifera* L. in Allindellille fredskov, Denmark. — Oikos **2**: 20-59.

Anschrift des Verfassers:

Univ.-Prof. Dr. Hannes F. PAULUS
Department für Evolutionsbiologie
Fakultätszentrum Zoologie-Anthropologie
Universität Wien
Althanstr. 14
1090 Wien
Austria
E-Mail: hannes.paulus@univie.ac.at